

Vitamin D-abhängige Rachitis Typ II
mit assoziierten Störungen
von Blutbildung und Immunsystem:
Die Wirkungen von Kalziferolen
auf verschiedene Zielorgane

Matthias M. Walka

Disbui. München

1987





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554824_0004

Aus der
Kinderklinik des Dr. von Haunerschen Kinderspitals
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Dr. Hans-Beat Hadorn

Vitamin D-abhängige Rachitis Typ II
mit assoziierten Störungen von Blutbildung und Immunsystem:
Die Wirkungen von Kalziferolen auf verschiedene Zielorgane

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von
Matthias M. Walka
aus
München
1986

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. H. B. Hadorn.....
.....

Mitberichterstatter: 1. Prof. Dr. N. Zöllner.....
2. Prof. Dr. M. Klingenberg.....

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter:

Dekan: Prof. Dr. W. Spann.....

Tag der mündlichen Prüfung: 23.07.1987.....



Ergebnisse dieser Arbeit wurden zum Teil vom Autor auf der 81. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Kinderheilkunde am 4. September 1985 in Frankfurt/M. vorgetragen. Die Zusammenfassung des Vortrages wurde veröffentlicht (WALKA et al. 1985).

Ergebnisse dieser Arbeit sollen unter dem Arbeits-Titel "Vitamin D dependent rickets type II associated with a neutrophil chemotaxis defect and extramedullary hematopoiesis" (Walka M. M., Däumling S., Belohradsky B. H., Haas R. J., Hadorn H. B., Kruse K., Marx S. J., in Vorbereitung) veröffentlicht werden.

DANKSAGUNGEN

Vor allem möchte ich meinem Doktorvater Prof. Hadorn danken. Er schenkte mir das Vertrauen, den Patienten mit dem hochinteressanten und komplexen Krankheitsbild unter seiner Aufsicht zu betreuen, wissenschaftliche Fragestellungen in eigener Verantwortung zu entwickeln und experimentell zu überprüfen.

Bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Prof. Belohradsky, der mir bei immunologischen Fragestellungen zur Seite stand und mir sein Labor für meine Untersuchungen zur Chemotaxis zur Verfügung stellte.

Herrn Prof. Haas sei für die Diskussion der Knochenmarksbefunde und anderer hämatologischer Fragestellungen gedankt.

Herrn Prof. K. Kruse, von der Universitätsklinik Würzburg, möchte ich herzlich für seine hilfreichen Ratschläge auf dem Vitamin D-Gebiet danken.

Bei allen Mitarbeitern von Station Intern 4 möchte ich mich herzlich bedanken: sie haben mir meine Arbeit wesentlich erleichtert.

Ich möchte an dieser Stelle auch dem Institut Mérieux Deutschland (Frau E. Kindt) danken, das im März 1985 meine Reise zum Sixth Workshop on Vitamin D nach Meran ermöglicht hat.

Last not least sei meinem Freund Dr. Stephan Däumling herzlich für manch anregendes Arbeitsessen gedankt.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Danksagungen	I
Inhaltsverzeichnis	II
Abkürzungsverzeichnis	VI
1. EINLEITUNG	1
2. ÜBERBLICK ÜBER DEN VITAMIN D-STOFFWECHSEL	2
2.1 Biosynthese von Kalziferolen	2
2.2 Regulation des Vitamin D-Stoffwechsels	4
2.2.1 Dermale Vitamin D ₃ -Synthese	4
2.2.2 Intestinale Kalziferolabsorption	4
2.2.3 Die hepatische 25-Hydroxylase	4
2.2.4 Die renale 1-Hydroxylase	4
2.2.5 Extrarenale 1-Hydroxylaseaktivität	5
2.2.6 Die 24-Hydroxylase	5
2.3 Serumkonzentrationen von Vitamin D-Metaboliten	6
2.4 Halbwertszeiten und Katabolismus von Vitamin D-Metaboliten	6
2.5 Molekulare Vermittlung der Vitamin D-Wirkungen	7
2.5.1 1,25(OH)D	7
2.5.2 24,25(OH)D	8
2.6 Zielorgane von Vitamin D-Metaboliten	9
2.7 Biologische Wirkungen von Vitamin D-Metaboliten	11
2.7.1 1,25(OH)D	11
2.7.2 24,25(OH)D	12
2.7.3 25(OH)D	13
2.8 Andere regulative Faktoren des Mineralstoffwechsels	14
2.8.1 Parathormon	14
2.8.2 Kalzitinin	14
2.9 Störungen des Vitamin D-Stoffwechsels	15



	Seite
3. RESISTENZ GEGEN 1,25(OH)D - VITAMIN D-ABHÄNGIGE RACHITIS TYP II	17
3.1 Definition	17
3.2 Fallberichte	18
3.2.1 Therapie und Verlauf	22
3.2.2 Serumspiegel der Vitamin D- Metabolite	26
3.2.3 Fibroblastenkulturen	29
3.2.4 Bilanzierungen des Mineral- haushaltes	31
3.2.5 Hämatologische Befunde	33
3.2.6 Immunologische Befunde	34
3.2.7 Alopezie	35
3.2.8 Dentale Defekte	37
4. KRANKENGESCHICHTE	39
4.1 Aufnahmeuntersuchung	39
4.2 Anamnese	40
4.3 Familiengeschichte	41
4.4 Befunde vor Therapie	44
4.4.1 Serum- und Urinchemie	44
4.4.2 Hämatologie	49
4.4.3 Immunologie	49
4.4.4 Stuhl	51
4.4.5 Röntgen und Sonographie	51
4.4.6 Zähne, Haare und Augen	52
4.5 Therapie	53
4.5.1 Vitamine und Mineralien	53
4.5.2 Ernährung	56
4.5.3 Physikalische Therapie	57
4.5.4 Antiinfektiöse Therapie	57
4.5.5 Kariesprophylaxe	58
4.5.6 Sonstige Maßnahmen	58
4.6 Verlauf	60
4.6.1 Serum- und Urinchemie	65
4.6.2 Hämatologie	72
4.6.3 Immunologie	78
4.6.4 Stuhl	80
4.6.5 Röntgen und Sonographie	82
4.6.6 Körpergröße und -gewicht, Leber- und Milzgröße, Zahnstatus und Schambehaarung	84

	Seite
5. EXPERIMENTELLER TEIL	86
5.1 Granulozytenchemotaxis	86
5.1.1 Methoden	86
5.1.2 Ergebnisse	90
5.2 Interleukinsynthese von Patienten- zellen in vitro	95
5.2.1 Methoden	95
5.2.2 Ergebnisse	97
5.3 Differenzierung von Knochenmarksstamm- zellen (CFU-GEMM)	99
5.3.1 Methoden	99
5.3.2 Ergebnisse	100
5.4 Knochendichtemessung mit dualer Gadolinum ¹⁵³ -Photonenabsorptiometrie	101
5.4.1 Methoden	101
5.4.2 Ergebnisse	103
5.5 Intestinale Kalziumabsorption mit stabilen Isotopen	105
5.5.1 Methoden	105
5.5.2 Ergebnisse	107
5.6 Fibroblastenkulturen	108
5.6.1 Methoden	108
5.6.2 Ergebnisse	110
6. - 9. <u>DISKUSSION</u>	114
6. DIFFERENTIALDIAGNOSE DES PATIENTEN	114
6.1 Skelett/Mineralstoffwechsel - VDAR II	114
6.2 Hämatologie	121
6.2.1 Extramedulläre Hämatopoese - Jaksch-Hayem'sche Anämie	121
6.2.2 Eisenmangel	128
6.2.3 Pathologische Thrombozytenfunktion	129
7. THERAPIE UND VERLAUF DER VITAMIN D-ABHÄNGIGEN RACHITIS TYP II	130
7.1 Mineralstoffwechsel und Knochenumsatz	130
7.1.1 Kalzium, Parathormon, Phosphat und alkalische Phosphatase im Serum und renale Mineralausscheidung	130

	Seite
7.1.2 Osteokalzin	146
7.1.3 Parathormonabhängige Parameter - TRP, TmPO ₄ , cAMP und Hydroxyprolin	151
7.2 Skelettbefunde	153
7.2.1 Knochendichte (BMC)	153
7.2.2 Radiologie	159
7.2.3 Dentale Befunde	162
7.3 Intestinale Kalziumabsorption	164
7.3.1 Messungen mit stabilen Kalzium- isotopen	164
7.3.2 Stuhlfettausscheidung	168
7.4 Physikalische Therapie	170
7.5 Prognose der Erkrankung	172
7.5.1 Zellkultur und Haarwuchs als prognostische Parameter	172
7.5.2 Remissionen bei VDAR II	173
7.5.3 Prognose des Patienten	176
7.6 Schema für diagnostisches und therapeutisches Vorgehen bei VDAR II	178
8. VERLAUF DER HÄMATOLOGISCHEN BEFUNDE	181
8.1 Extramedulläre Blutbildung	181
8.2 Eisenmangel	186
8.3 Stammzellkultur unter Therapie	188
8.4 Blutbild unter medullärer Hämatopoese	191
9. VERLAUF DER IMMUNOLOGISCHEN BEFUNDE	193
9.1 Granulozytenchemotaxis	195
9.2 Interleukine	200
9.3 Infektionsanfälligkeit des Patienten	203
10. ZUSAMMENFASSUNG	206
11. LITERATUR	210
A N H A N G Abb. 9 - 20	227

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abb.	Abbildung
1a(OH)D ₃	1-Alpha-Hydroxycoleciferol (Alfacalcidol ¹⁾)
AP	Aktivität der alkalischen Phosphatase
API	Anaemia pseudoleucemica infantum
ATP	Adenosintriphosphat
BMC	Bone mineral content (Knochendichte)
BWS	Brustwirbelsäule
Ca	Kalzium
CaBP	Kalziumbindendes Protein
cAMP	Cyclo-Adenosinmonophosphat
CFU-Gemm	Colony forming units-granulocytic, erythroid monocyte/macrophage, megakaryocytic
ConA	Concanavalin A
CPK	Kreatininphosphokinase
cpm	Counts per minute
D ₂	Ergocalciferol ²⁾
D ₃	Colecalciferol ²⁾
DBP	Vitamin D-bindendes Protein
DHT	Dihydrotachysterol
DNS	Desoxyribonukleinsäure
EBK	Eisenbindungskapazität
EDTA	Ethylendiamintetraazetat
FCS	Fetales Kälberserum
FHR	Familiäre hypophosphatämische Rachitis (Phosphatdiabetes, Vitamin D-resistente Rachitis ALBRIGHT et al. 1937)

1) Industrial Nonproprietary Name zitiert nach der Roten Liste 1985.

2) Die Bezeichnungen Vitamin D₂ bzw. D₃ werden nur verwendet, wenn auf die Unterschiede der beiden Substanzen abgehoben wird. In den übrigen Fällen wird die Bezeichnung Vitamin D benutzt; mit diesem Begriff werden beide Substanzen ohne Rücksicht auf ihre - geringen - Unterschiede bezeichnet.

Gamma-GT	Gamma-Glutamyl-Transpeptidase
GF	Glomeruläre Filtrationsrate
gla	Gamma-carboxy-glutamic acid
GOT	Glutamat-Oxalazetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
^3H	Tritium
I.E.	Internationale Einheiten
Ig	Immunglobulin
IL 1	Interleukin 1
IL 2	Interleukin 2
iv	intravenös
KG	Körpergewicht
LM	Lebensmonat
LPS	Lipopolysaccharid
LTT	Lymphozytentransformationstest
LWS	Lendenwirbelsäule
MCV	Mean corpuscular volume (mittleres Erythrozytenvolumen)
MKA	Monoklonaler Antikörper
MNC	Mononukleäre Zellen
MW	Molekular Weight
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
Oc	Osteokalzin
1-OHase	25-Hydroxyvitamin D-1-alpha-Hydroxylase (1-Hydroxylase)
24-OHase	25-Hydroxyvitamin D-24-Hydroxylase (24-Hydroxylase)
25-OHase	Vitamin D-25-Hydroxylase (25-Hydroxylase)

25(OH)D	25-Hydroxy-Vitamin D (Calcifediol) ¹⁾
1,25(OH)D	1,25-Dihydroxy-Vitamin D (Calcitriol) ¹⁾
24,25(OH)D	24,25-Dihydroxy-Vitamin D ¹⁾
1,24,25(OH)D	1,24,25-Trihydroxy-Vitamin D
P	Phosphat (anorganischer Phosphor)
PHA	Phytohämagglutinin
p.o.	Per os
PTH	Parathormon
PTT	Partielle Thromboplastinzeit
PWM	Pokeweed-Mitogen
(R)	Geschütztes Warenzeichen
RIA	Radioimmunoassay
RNS	Ribonukleinsäure
S	Svedberg; Einheit der Sedimentationskonstante
SD	Standard deviation (Standardabweichung)
SEM	Standard error of the mean (Standardabweichung der Mittelwerte)
Tab.	Tabelle
TBG	Thyroxin-bindendes Globulin
TmPO ₄ /GFR	Tubuläres Transportmaximum für Phosphat, bezogen auf die glomeruläre Filtrationsrate
TPHA	Treponema pallidum Hämagglutinatins-Test
TRP	Tubuläre Rückresorption von Phosphat
TSH	Thyreoidea-stimulierendes Hormon
VDAR I	Vitamin D-abhängige Rachitis Typ I (hereditäre Pseudomangelrachitis PRADER et al. 1961)
VDAR II	Vitamin D-abhängige Rachitis Typ II
VDMR	Vitamin-D-Mangelrachitis

1) Bei Konzentrationsmessungen von 25(OH)D, 1,25(OH)D und 24,25(OH)D wird in der Regel nicht zwischen den Metaboliten von D₂ und D₃ unterschieden. Eine Differenzierung wird, falls erforderlich, durch die entsprechenden Indizes vorgenommen. Die in Klammern angegebenen Industrial Nonproprietary Names (zitiert nach der Roten Liste 1985) bezeichnen industriell hergestellte Vitamin D₃-Derivate.

1. EINLEITUNG

Die Rachitis ist als Systemkrankheit des kindlichen Skeletts definiert. Sie wurde bereits vor mehr als 400 Jahren beschrieben (REUSNER 1582). Bahnbrechende Fortschritte waren die Entdeckung der rachitisheilenden Wirkung von ultravioletem Licht (HULDSCHINSKY 1919) und von Vitamin D (WINDAUS et al. 1927).

Durch die Verbreitung der Vitamin-D-Prophylaxe wurde die Mangelrachitis seltener und die Vitamin D-resistenten Formen traten mehr und mehr in den Vordergrund. Die Analyse dieser Krankheitsbilder sowie die Entdeckung der verschiedenen Kalziferolmetabolite (DELUCA et al. 1983) ließ die Erkenntnisse auf dem Vitamin D-Gebiet in den letzten Jahrzehnten rasch wachsen (deutschsprachige Übersichten bei KRUSE 1985 und MERKE et al. 1986).

Die vorliegende Arbeit handelt von einem Patienten mit Vitamin D-abhängiger Rachitis Typ II (VDAR II). Diese seltene, erst seit einigen Jahren bekannte Erkrankung beruht offensichtlich auf einer Endorganresistenz gegenüber Vitamin D (BROOKS et al. 1978). Der beschriebene Patient weist neben den rachitischen Symptomen zusätzliche Befunde wie extramedulläre Blutbildung und einen Defekt der Granulozytenchemotaxis auf, die bisher nicht gemeinsam mit VDAR II beobachtet wurden. Andererseits fehlt bei dem Patienten eine Alopezie, die bei VDAR II auffallend häufig auftritt.

Die Befundkonstellation des Patienten, Therapie und Verlauf der Erkrankung über zwei Jahre werden ausführlich dargestellt. Die Möglichkeit von Zusammenhängen zwischen den einzelnen pathologischen Befunden und der Vitamin D-Stoffwechselstörung wird eingehend diskutiert.

Die Arbeit will durch die Mitteilung von klinischen Beobachtungen und Forschungsergebnissen zum Verständnis des Vitamin D-Stoffwechsels und seiner Bedeutung beitragen und neue Ansätze zur Erforschung des Gebietes aufzeigen.

2. ÜBERBLICK ÜBER DEN VITAMIN D-STOFFWECHSEL

2.1 Biosynthese von Kalziferolen

Die Synthese von $1,25(\text{OH})\text{D}$, der biologisch wirksamsten Form von Vitamin D, läßt sich in drei Abschnitte gliedern:

- In der Haut entsteht aus Cholesterin Vitamin D_3 . Dieser Prozeß konnte in den letzten Jahren von den Arbeitsgruppen um Holick, Okano und Takada weitgehend aufgeklärt werden (HOLICK et al. 1982 und HOLICK 1985). Das Cholesterinmolekül wird von der Cholesterindehydrogenase zu 7-Dehydrocholesterin (Provitamin D_3) oxidiert.

UV-Licht spaltet den B-Ring des Provitamin D_3 zwischen den C-Atomen 8 und 9. Das Produkt wird Prävitamin D_3 genannt und in einer spontanen, stark temperaturabhängigen Reaktion zu Vitamin D_3 isomerisiert.
- In den Mitochondrien und Mikrosomen der Leber wird Vitamin D zu $25(\text{OH})\text{D}$ hydroxyliert (BJORKHEM et al. 1979 und 1980).
- $25(\text{OH})\text{D}$ wird vor allem in Mitochondrien der Niere zu $1,25(\text{OH})\text{D}$ hydroxyliert. Im Serum von anephrischen Patienten können keine oder nur sehr geringe Mengen von $1,25(\text{OH})\text{D}$ gemessen werden (LAMBERT et al. 1982).

Außerdem wurden Aktivitäten von 1-OHase im Plazentargewebe von Ratten nachgewiesen (WEISMAN et al. 1978 und 1979). Menschliche Knochenzellen (HOWARD et al. 1981) und Makrophagen (GRAY et al. 1982) produzieren in vitro $1,25(\text{OH})\text{D}$.

In vivo scheint die Syntheseleistung dieser Zellen so gering zu sein, daß die Serumkonzentration von $1,25(\text{OH})\text{D}$ nicht beeinflußt wird (MASON 1985). Obwohl also beim Gesunden extrarenal gebildetes $1,25(\text{OH})\text{D}$ kaum systemisch wirksam ist, gibt es immer deutlichere Hinweise auf ihre physiologische Bedeutung für lokal regulierte Abwehrprozesse (MANOLAGAS 1985).

24,25(OH)D wird mit Hilfe der 24-OHase aus 25(OH)D gebildet. 24,25 (OH)D wird hauptsächlich in der Niere synthetisiert (TAYLOR et al. 1978), aber auch in Knochenzellen (HOWARD et al. 1981) und in der Plazenta (WEISMAN et al. 1979). Insoweit entsprechen sich die Syntheseorte von 1,25(OH)D und 24,25(OH)D. Darüber hinaus wird in vitro von Zellen aus Knorpel (GARABEDIAN et al. 1978), Darm (KUMAR et al. 1978) Endometrium (ACKER et al. 1982) und Fibroblasten (FELDMAN et al. 1982) 24,25(OH)D, aber kein 1,25(OH)D gebildet.

Außer den bisher genannten wurden 15 weitere biogene Metabolite von Vitamin D identifiziert, die jedoch von untergeordneter biologischer Bedeutung sein dürften (NORMAN et al. 1982).

Vitamin D₂ kann von Mensch und Tier nicht gebildet werden, wird aber von ihnen in ähnlicher Weise wie D₃ verstoffwechselt. Obwohl es Hinweise auf Unterschiede in der Wirksamkeit der beiden Substanzen gibt (NAPOLI et al. 1985), werden diese ob ihrer geringen Relevanz in der Regel vernachlässigt (KRUSE 1985).

2.2. Regulation des Vitamin D-Stoffwechsels

2.2.1 Dermale Vitamin D₃-Synthese

Die dermale D₃-Biosynthese wird bei intensiver Sonnenbestrahlung der Haut durch zwei Mechanismen limitiert:

- Bei Akkumulation von Prävitamin D₃ wird es zu Tachysterol₃ und Lumisterol₃, zwei inaktiven Metaboliten, umgewandelt (NORMAN et al. 1982).
- Melanin resorbiert UV-Licht der gleichen Wellenlänge wie Provitamin D₃. Je mehr die Haut pigmentiert ist, desto geringer ist die flächenbezogene Produktion von Prävitamin D₃ (CLEMENS et al. 1982).

2.2.2 Intestinale Kalziferolabsorption

Vitamin D und seine Metabolite werden gemeinsam mit anderen lipophilen Substanzen im proximalen Dünndarm resorbiert. Bei Fettmalabsorption droht eine Mangelversorgung an Kalziferolen. Bei erhöhten Kalziferolserumspiegeln hält die intestinale Resorption unvermindert an, da dieser Vorgang nicht durch Regulationsmechanismen limitiert wird.

2.2.3 Die hepatische 25-Hydroxylase

BELL et al. (1984) wiesen eine Inhibition der 25-OHase durch 1,25(OH)D nach, während frühere Arbeiten keinen sicheren Hinweis auf eine physiologisch relevante Regulation dieses Enzyms ergaben.

2.2.4 Die renale 1-Hydroxylase

Der wichtigste Stimulator der 1-OHase in vivo ist Parathormon (PTH). Damit kann durch Ansteigen des Serum-PTH (sekundärer Hyperparathyreoidismus) die 1,25(OH)D-Synthese gesteigert werden. Der Vorgang wird durch cAMP-Freisetzung vermittelt (KAWASHIMA et al. 1982).

1,25(OH)D und in zweiter Linie 25(OH)D hemmen die 1-OHase. Es scheint sich dabei um einen rezeptorvermittelten Vorgang zu handeln, für den RNS- und Proteinsynthese erforderlich ist (OMDAHL et al. 1980).

Kalzium- (TRECHSEL et al. 1980) und Phosphat- (TANAKA et al. 1973) Mangel stimulieren die 1-OHase auch in Abwesenheit von PTH. Auch Kalzitinin stimuliert die 1-OHase (KAWASHIMA 1981). Sexualhormongaben bei kastrierten Hähnen stimulierten ebenfalls die 1-OHase (TANAKA et al. 1978). Die molekulare Vermittlung dieser Stimuli wurde bisher noch nicht aufgedeckt.

2.2.5 Die extrarenale 1-Hydroxylaseaktivität

Die Synthese von 1,25(OH)D in Pulmonalmakrophagen von gesunden Probanden wird von Gamma-Interferon und bakteriellen Lipopolysacchariden stimuliert (REICHEL et al. 1985). Dies zeigt, daß der Vitamin D-Stoffwechsel zumindest extrarenal nicht nur von Faktoren aus dem Bereich des Mineralstoffwechsels reguliert wird und ist somit ein gewichtiges Argument für eine weitergehende Bedeutung von 1,25(OH)D außerhalb seines traditionellen Wirkungsbereichs.

2.2.6 Die 24-Hydroxylase

Die 24-OHase wird hauptsächlich durch steigende 1,25(OH)D-Konzentrationen stimuliert (TANAKA et al. 1975). Daneben antwortet die 24-OHase auf die regulierenden Faktoren der 1-OHase in der entgegengesetzten Weise (MARX et al. 1983).

Über eine eventuelle Regulation des Katabolismus der Vitamin D-Metabolite liegen noch keine gesicherten Erkenntnisse vor.

2.3 Serumkonzentrationen von Vitamin D-Metaboliten

Die mittleren Serumkonzentrationen der Kalziferole bei gesunden Erwachsenen sind in Tabelle 1 zusammengefaßt. Zu Zeiten erhöhten Kalziumbedarfs durch Längenwachstum, Schwangerschaft, Laktation ist der Serumspiegel von 1,25(OH)D erhöht (FRASER 1980).

Vitamin D und seine Metabolite werden im Plasma mit dem Vitamin D-Bindungsprotein (DBP) transportiert (BOUILLON et al. 1976).

Tabelle 1:

Mittlere Serumkonzentrationen von Vitamin D und seinen Metaboliten bei Erwachsenen (nach KRUSE 1985).

Vitamin D	1 - 5 ng/ml
25(OH)D	10 - 50 ng/ml
1,25(OH)D	20 - 60 pg/ml
24,25(OH)D	1 - 5 ng/ml

2.4 Halbwertszeiten und Katabolismus von Vitamin D-Metaboliten

Die biologischen Halbwertszeiten der wichtigsten Vitamin D-Metabolite sind in Tabelle 2 zusammengefaßt. Der Hauptausscheidungsweg ist die Galle (ONISKO et al. 1980a), das wichtigste Ausscheidungsprodukt Kalzitroinsäure (ONISKO et al. 1980b).

Tabelle 2:

Biologische Halbwertszeiten von Vitamin D und seinen Metaboliten (nach KANIS 1982).

Vitamin D	1 - 2 Tage
25(OH) D	5 - 20 Tage
1,25(OH)D	1 - 3 Tage
24,25(OH)D	12 - 31 Tage

2.5 Molekulare Vermittlung der Vitamin D-Wirkungen

2.5.1 1,25(OH)D

Die molekularen Grundlagen der Vitamin D-Wirkung wurden vor allem an intestinalen Mukosazellen erforscht (Über-sichten bei NORMAN et al. 1982, DeLUCA et al. 1983, MARX et al. 1983 und HAUSSLER et al. 1985).

Die intrazelluläre Wirkungsweise von 1,25(OH)D ähnelt in manchem den Steroidhormonen, mit denen es auch große strukturelle Ähnlichkeit aufweist. Freies, nicht an DBP gebundenes 1,25(OH)D diffundiert aus dem Blut durch die Zellmembran in das Zytosol. Dort wird es an einen spezifischen Rezeptor gebunden.

Der Rezeptor wurde aus Zytoplasma und Nukleus isoliert und eingehend untersucht. Er hat eine Sedimentationskonstante von 3,5 - 3,7 S und ein Molekulargewicht von 47.000 bis 99.700 (je nach Isolierungsmethode). Mit einer Dissozia-tionskonstante um 10^{-10} M weist er eine hohe Affinität zu 1,25(OH)D auf. 25(OH)D wird mit 0,5 %, 24,25(OH)D mit 0,03 %, 1,24,25(OH)D mit 41 % der Affinität von 1,25(OH)D gebunden. An der näheren Charakterisierung des Rezeptors mit monoklonalen Antikörpern wird gearbeitet (PIKE 1985).

Der 1,25(OH)D-Rezeptorkomplex erfährt nach der Bindung eine Aktivierung, die in ihren Details noch wenig verstan-den ist. Der aktivierte Komplex lagert sich dann an die DNS an und moduliert die RNS-Transskription. Es sind be-reits eine Reihe von Proteinen bekannt, deren Synthese auf diese Weise durch 1,25(OH)D stimuliert wird. Die wich-tigsten sind in Tabelle 3 aufgeführt.

Bei einer Reihe von kalziumbindenden Proteinen (CaBP) konnte die völlige Abhängigkeit ihrer Synthese von der An-wesenheit von 1,25(OH)D nachgewiesen werden (FRIEDLANDER et al. 1977). Die biologische Wirkung der Vitamin D-stimulierten Proteine wird in Kapitel 2.7 diskutiert.

Tabelle 3: Vitamin D-abhängige Proteine

Alkalische Phosphatase

Kalziumstimulierte Adenosintriphosphatase¹⁾

Kalziumbindende Proteine (CaBP)

- a) MW um 28.000, bei Vögeln und Säugetieren²⁾ in verschiedenen Geweben
- b) MW um 10.000, im Darm von Säugern
- c) MW um 9.000, in der Haut von Säugern²⁾
- d) MW um 6.000, im Knochen von Säugern²⁾, "Osteokalzin"

1) Identität mit der AP wird diskutiert

2) auch beim Menschen beschrieben

Während die rezeptorvermittelte Wirkung von 1,25(OH)D mit nachfolgender Stimulation der Proteinsynthese allgemein akzeptiert ist, ist die Existenz von genomunabhängigen Effekten umstritten. Es wurde eine direkte Wirkung auf den Kalziumtransport in duodenalen Mukosazellen durch eine Veränderung der Lipidstruktur der Zellmembran beschrieben (FONTAINE et al. 1981). Eine weitere direkte Wirkung auf die Zellmembran wurde mit der Hemmung der renalen Adenylzyklase beschrieben (CLOIX et al. 1980).

2.5.2 24,25(OH)D

Die Existenz spezifischer Rezeptoren für 24,25(OH)D ist noch offen. Einige Autoren (CORVOL et al. 1980, SOMJEN et al. 1982) beschreiben eine spezifische Bindung von 24,25(OH)D in tierischen Knorpel- und Knochenzellen. Bisher konnte allerdings kein eigenständiger 24,25(OH)D-Rezeptor isoliert werden. Auch spricht die Arbeit von STUMPF et al. 1985 gegen eine spezifische Bindung von 24,25(OH)D in vivo (siehe folgender Abschnitt).

2.6 Zielorgane von Vitamin D-Metaboliten

Zwei Merkmale weisen darauf hin, daß bestimmte Zellen Zielorgane von Vitamin D-Metaboliten sind:

- 1) Konzentration und Retention von radioaktiv markierten Vitamin D-Metaboliten in den Kernen der betreffenden Zellen.

Die Entwicklung geeigneter autoradiographischer Methoden (STUMPF et al. 1979) brachte innerhalb von wenigen Jahren Kenntnis von immer mehr Zielorganen für 1,25(OH)D.

Im Hinblick auf die vorliegende Arbeit sind Zielzellen in Thymus, Lymphknoten, Knochenmark, Haut, Haarschäften, Zahnpulpa und Nebenschilddrüse von besonderem Interesse. Darüber hinaus wurden Anreicherungen von 1,25(OH)D in Pankreas, Schilddrüse, Ösophagus, Speicheldrüse, Mamma, Plazenta und Muskelzellen von Herz und Magen entdeckt. Die "klassischen" Zielorgane Darm, Knochen und Niere wurden bestätigt. Nur in wenigen Geweben wie Skelettmuskel und Leber wurde keine nukleäre Anreicherung gefunden (Übersicht bei STUMPF et al. 1981 und 1985).

Mit der gleichen Methodik konnte keine nukleäre Anreicherung von radiomarkierten 25(OH)D und 24,25(OH)D nachgewiesen werden. Eine Anreicherung im Zytoplasma von Nierenzellen ist wahrscheinlich durch die Intensität der Vitamin D-Verstoffwechslung bedingt. Während die nukleäre Anreicherung von 1,25(OH)D in den Zielzellen Spezifität aufweist (d. h. die Gabe von nichtmarkiertem 1,25(OH)D im Überschuß vor der radiomarkierten Substanz sättigt die Bindungsstellen und verhindert eine Anreicherung von Radioaktivität), ist dies bei der Konzentration der beiden anderen Metabolite in der Niere nicht der Fall (STUMPF et al. 1985).

- 2) Nachweis von Vitamin D-abhängig synthetisierten Proteinen in den Zellen.

Vitamin D-abhängige Proteine konnten bereits in einer Reihe der obengenannten Zellen gefunden werden (Übersicht bei NORMAN et al. 1982 und MARX et al. 1983): in Darm, Knochen, Niere, Haut, Nebenschilddrüse, Pankreas, Speicheldrüsen, Mamma und Placenta. In den anderen Zelltypen gelang der Nachweis, der wesentlich schwieriger als die Autoradiographie durchzuführen ist, bisher nicht.

2.7 Biologische Wirkungen von Vitamin D-Metaboliten

2.7.1 1,25(OH)D

Bis heute haben sich vier Wirkungsschwerpunkte von 1,25(OH)D herauskristallisiert, die in Tabelle 4 zusammengestellt sind.

Tabelle 4: Wirkungen von 1,25(OH)D nach MARX et al. 1984.

- 1) Erhöhung des Kalziumflusses in Richtung Plasma
 - Darmschleimhaut
 - Resorptive Fläche am Knochen
 - Distale Tubuli der Niere
- 2) Beeinflussung des Kalziferolstoffwechsels
 - Hemmung der renalen 1-OHase
 - Stimulierung der renalen 24-OHase
 - Erhöhung des dermalen 7-Dehydro-cholesterol
- 3) Beeinflussung der Proteinsekretion
 - Erhöhung von Osteokalzin (Osteoblasten)
 - Verminderung von Kollagen (Osteoblasten)
 - Erhöhung von Prolaktin (Hypophyse)
- 4) Regulation der Zelldifferenzierung bei monozytären Zellen

Neben diesen Hauptwirkungen von 1,25(OH)D fanden sich Hinweise auf folgende weitere Wirkungen:

- 1,25(OH)D scheint die Sekretion von Parathormonen, Insulin und TRH zu beeinflussen. Es ist wahrscheinlich auch an der Regulation der renalen Kalzium- und Phosphatausscheidung beteiligt. Die physiologische Bedeutung dieser Wirkungen von 1,25(OH)D ist noch ungewiß (MARX et al. 1983).

- Die biologische Wirkung auf Darm und Knochen, Zelldifferenzierung, Blutbildung und Immunantwort, in Zahnpulpa und Haarschaft wird bei der Diskussion der diesbezüglichen Befunde unseres Patienten abgehandelt.

2.7.2 24,25(OH)D

Die biologische Wirksamkeit von 24,25(OH)D ist umstritten. Unzweifelhaft scheint, daß 24,25(OH)D die gleichen Effekte wie 1,25(OH)D auslösen kann, allerdings erst bei deutlich höheren Konzentrationen. Dies entspricht der Tatsache, daß 24,25(OH)D mit wesentlich geringerer Affinität an den 1,25(OH)D-Rezeptor gebunden wird. Verstärkt werden diese Effekte von 24,25(OH)D durch die teilweise Hydroxylierung zu 1,24,25(OH)D, dessen Affinität zum 1,25(OH)D-Rezeptor zwischen der von 24,25(OH)D und 1,25(OH)D liegt (MARX et al. 1983). Eine von 1,25(OH)D verschiedene Wirksamkeit von 24,25(OH)D ist umstritten. Experimente sprechen vor allem für Wirkungen am Knorpel (ULMANN et al. 1985 und SÖMJEN et al. 1985). Wenn Wirkungen auf den Kalziumstoffwechsel behauptet werden, scheinen diese ähnlich dem Kalzitonin einen kalziumbewahrenden Charakter zu haben: 24,25(OH)D hemmt die Demineralisierung des Knochens (RUBINGER et al. 1985) und die renale Kalziumausscheidung (WALD et al. 1985). Diese Hypothesen stehen auch in Einklang mit der inversen Regulation von 24,25(OH)D durch 1,25(OH)D: Hohe 1,25(OH)D-Spiegel, die zu Knochenresorption und Kalziurie führen, induzieren 24,25(OH)D, das gegen eben diesen Effekt zu schützen scheint. Bestechend an diesem Gedankengang ist, daß er die zwei konkurrierenden Thesen von 24,25(OH)D als Abbauprodukt des 1,25(OH)D-Hormonsystems und von 24,25(OH)D als eigenständig wirksamer Substanz in Einklang bringen würde.

Es gibt aber auch namhafte Vitamin D-Experten, die eigenständige Wirkungen von 24,25(OH)D ablehnen (DeLUCA et al. 1983).

2.7.3 25(OH)D

Die Bedeutung von 25(OH)D liegt zum größten Teil in seiner Speicherfunktion (KANIS 1982). Es hat eine lange biologische Halbwertszeit (siehe Kapitel 2.3) und eine mehr als 20fach höhere Affinität zum Transport- und Speicherprotein DBP als 1,25(OH)D (HORST 1979).

25(OH)D hat eine sehr geringe Affinität zum 1,25(OH)D-Rezeptor und kann deshalb die entsprechenden Effekte nur bei sehr hohen Konzentrationen auslösen. Die geringe Wirksamkeit von 25(OH)D zeigt sich deutlich bei der VDAR I: Hier kommt es bei normalem 25(OH)D und erniedrigtem 1,25(OH)D im Serum zu schwerer Rachitis.

Eine Arbeit spricht dem 25(OH)D eine eigenständige Wirkung zu, eine Beeinflussung des ATP-Gehalts des Skelettmuskels (BIRGE et al. 1975).

Zusammenfassung

- 1,25(OH)D ist der bedeutendste Effektor des Vitamin D-Systems.
- Einiges spricht dafür, daß 24,25(OH)D ein weniger aktiver Metabolit ist: Er zeitigt die Wirkungen von 1,25(OH)D mit geringerer Intensität, seine Synthese wird von 1,25(OH)D wesentlich bestimmt und seine lange biologische Halbwertszeit spricht gegen eine Rolle als eng regulierte Wirksubstanz.
- Auf der anderen Seite spricht einiges dafür, daß 24,25(OH)D einzelne umschriebene eigenständige Wirkungen, insbesondere am Skelett ausübt. An diesem Punkt herrscht noch wenig Klarheit.
- Die beiden letztgenannten Punkte lassen sich spekulativ auf einen gemeinsamen Nenner bringen, wenn man 24,25(OH)D als Degradationsform hinsichtlich 1,25(OH)D ansieht, das gleichzeitig einige 1,25(OH)D-Effekte antagonisiert.

2.8 Andere regulative Faktoren des Mineralstoffwechsels

2.8.1 Parathormon (PTH)

Die Erforschung des PTH ist in den letzten Jahren weit fortgeschritten (Übersichten bei BROADUS 1981 und KRUSE 1985).

PTH ist ein Peptid aus 84 Aminosäuren. Das intakte Molekül und seine aminoterminalen Fragmente sind biologisch aktiv. Sie weisen die notwendigen Aminosäuresequenzen auf, um an die Rezeptoren der Effektorzellen gebunden zu werden. Die Bindung von PTH an seinen Rezeptor, der an der Außenseite der Zellmembran gelegen ist, führt zur Erhöhung der intrazellulären cAMP-Konzentration. cAMP beeinflußt die Aktivität von Enzymen durch Phosphorylierung und vermittelt so die PTH-Wirkungen.

Die wichtigsten Zielorgane von PTH sind Skelett und Niere. PTH bewirkt gemeinsam mit 1,25(OH)D die Freisetzung von Kalzium und Phosphat aus dem Knochen. In der Niere hemmt es die Kalzium- und fördert die Phosphatausscheidung. Diese Eigenschaften prädestinieren PTH zur schnellen Kompensation von Hypokalzämien aus dem Mineraldepot des Skeletts. Die Gefahr von extraossären Verkalkungen, die durch das Überschreiten des Löslichkeitsprodukts von Kalzium und Phosphat bei gleichzeitiger Freisetzung der beiden Substanzen droht, wird durch die Förderung der renalen Phosphatausscheidung verhindert.

An der langfristigen Aufrechterhaltung des Kalziumpools, die durch die Stimulierung der intestinalen Kalziumresorption durch 1,25(OH)D bewirkt wird, ist PTH durch die Stimulierung der renalen 1-OHase beteiligt.

2.8.2 Kalzitinin

Die physiologische Bedeutung von Kalzitinin scheint hinter PTH und Vitamin D zurückzustehen und ist weit weniger aufgeklärt. Wahrscheinlich schützt Kalzitinin den Knochen vor übermäßiger Entmineralisierung und wirkt bei der Retention des Nahrungskalziums im Körper mit (BROADUS 1981).

2.9 Störungen des Vitamin D-Stoffwechsels

Die wichtigsten Störungen des Vitamin D- und Kalzium-Phosphat-Stoffwechsels sind im folgenden stichwortartig aufgelistet:

- Vitamin D-Mangel durch ungenügende Besonnung der Haut und/oder geringen Vitamingehalt der Nahrung (Vitamin D-Mangelrachitis).
- Eine Reihe von Erkrankungen ist durch eine ungenügende renale Synthese von $1,25(\text{OH})\text{D}$ gekennzeichnet. Es gibt hereditäre (VDAR I) und durch Verminderung von funktionsfähigem Nierenparenchym erworbene Defekte der 1-OHase .
- Der X-chromosomalen hypophosphatämischen Rachitis (Phosphatdiabetes) liegen offenbar zwei Mechanismen zugrunde, eine tubuläre Rückresorptionsstörung für Phosphat und eine Regulationsstörung der 1-OHase . Es ist noch nicht bekannt, wie diese Störungen zusammenhängen.
- Bei VDAR II führen in vitro nachweisbare, hereditäre Rezeptordefekte zur Endorganresistenz gegen $1,25(\text{OH})\text{D}$. Das Krankheitsbild wird im nächsten Kapitel ausführlich abgehandelt.
- Die Rachitis antiepileptica entsteht bei langfristiger Therapie vermutlich aufgrund einer Hemmung der intestinalen Kalziumabsorption.
- Bei Hypo- und Pseudohypoparathyreoidismus ist die $1,25(\text{OH})\text{D}$ -Synthese aufgrund mangelnder Stimulation durch PTH vermindert.
- Intestinale Malabsorption bei Erkrankungen der Darmschleimhaut und des exokrinen Pankreas sowie durch Verminderung der resorptiven Oberfläche nach chirurgischen Eingriffen.

- Bei seniler Osteoporose, langfristiger parenteraler Ernährung und bei hyperchlorämischer Azidose können verminderte 1,25(OH)D-Serumspiegel trotz normaler 25(OH)D-Serumspiegel vorliegen. Die pathophysiologischen Zusammenhänge sind weitgehend ungeklärt.
- Verluste von proteingebundenen Vitamin D-Metaboliten bei nephrotischem Syndrom. Verluste bei Störungen des enterohepatischen Kreislaufs von Vitamin D-Metaboliten sind von ungeklärter klinischer Relevanz.

Erschöpfende Zusammenfassungen über die verschiedenen Störungen finden sich bei MARX et al. 1983 und KRUSE 1985.

3. RESISTENZ GEGEN 1,25(OH)D - VITAMIN D-ABHÄNGIGE RACHITIS TYP II

3.1. Definition

Früher bezeichnete man alle Rachitisformen, die nicht auf eine übliche Vitamin D-Mangeltherapie ansprachen, als Vitamin D-restistent.

Unter diesen Begriff fielen also der Phosphatdiabetes (FHR; ALBRIGHT et al. 1937) und die Pseudomangelrachitis (VDAR I; PRADER et al. 1961). Heute, da die Einsicht in die molekularen Mechanismen der Vitamin D-Wirkung erheblich gewachsen sind, faßt man den Begriff Resistenz wesentlich enger: Er wird nur angewendet, wenn eine subnormale biologische Wirkung bei normaler Konzentration des Wirkfaktors am Wirkungsort vorliegt (MARX et al. 1984). Diese Bedingungen liegen nur bei der VDAR II vor: Hier konnten in Zellkulturen der Patienten Rezeptorendefekte nachgewiesen werden (siehe Kapitel 3.2.3).

Übersichten über die Resistenz gegen 1,25(OH)D finden sich bei MARX 1984, MARX et al. 1984 und 1985.

Da die Ausprägung der VDAR II in Klinik und Labor bei den einzelnen Patienten sehr unterschiedlich ist, werden die Charakteristika der Erkrankung im folgenden anhand der Fallberichte dargestellt.

3.2 Fallberichte

Der Name Vitamin D-abhängige Rachitis Typ II (VDAR II) wurde erstmals bei BROOKS et al. 1978 genannt. Seither sind 45 Fälle in 23 Familien beschrieben worden (siehe Tabelle 5).

In der Tabelle 5 sind weiterhin Veröffentlichungen angegeben, in denen weitere Daten der jeweiligen Patienten enthalten sind.

Die in Tabelle 5 angegebenen Nummern werden in der gesamten Arbeit zur Kennzeichnung der entsprechenden Familien verwendet. Geschwister werden dem Alter nach mit Großbuchstaben unterschieden, so bedeutet z. B. Patient 2A das älteste erkrankte Geschwister der von MARX 1978 beschriebenen Familie.

Das Alter der Patienten bei Beginn der Erkrankung oder, falls nicht verfügbar, das Alter bei Diagnosestellung, lag zwischen der zweiten Hälfte des ersten Lebensjahres und dem 15. Lebensjahr.

In 11 Familien waren die Eltern der Patienten blutsverwandt, in 10 konnten keine entsprechenden anamnestischen Hinweise erhoben werden. Bei 3 Berichten wird die Familienanamnese nicht erwähnt (Tabelle 6). Bei 15 Familien wird die Gesamtzahl der Geschwister und die der an VDAR II Erkrankten angegeben: 32 von 68 Kindern sind betroffen. Dies entspricht 47 % und liegt somit deutlich über dem bei autosomal rezessiv vererbten Krankheiten erwarteten Anteil von 25 %.

In 14 von 22 Familien zeigen die Patienten Alopezie (Tabelle 6). Die Alopezie liegt entweder bei allen oder bei keinem Patienten einer Familie vor.

15 der 45 an VDAR II Erkrankten verstarben (33 % der Patienten). Die Todesfälle traten in 8 Familien auf (Tabelle 6). Bei 6 Familien sind Todesursachen angegeben. Ausnahmslos führten Pneumonien zum Tode.

**Tabelle 5: Übersicht über die bisher veröffentlichten
VDAR II-Patienten**

Die Familien sind chronologisch numeriert. Es sind Erstautor, Jahr der Erstveröffentlichung und die Anzahl der erkrankten Geschwister angegeben, gefolgt von den Berichten, in denen weitere Daten der jeweiligen Familie enthalten sind.

o kennzeichnet unvollständige Fallberichte im Rahmen von Abstracts und Fallzusammenstellungen;

* kennzeichnet Arbeiten, in denen Ergebnisse von Zellkulturen enthalten sind.

1 Brooks	1978	1	Brooks 80	
2 Marx	1978	2	Marx 80, Eil 81*, Liberman 83*, Pike 84*, Gamblin 85*	
3 Rosen	1979	2	Eil 81*, Liberman 83*, Pike 84*, Gamblin 85*	
4 Balsan	1979	4	Liberman 83*, Pike 84*, Balsan 83*, Balsan 86*	
5 Zerwekh	1979	1	Griffin 83*	
6 Liberman	1980	1	Eil 81*, Liberman 83*, Gamblin 85*	
7 Sockalosky	1980	1		
8 Tsuchiya	1980	1	Clemens*	
9 Beer	1981	1	Liberman 83*, Pike 84*	
10 Kudoh	1981	1		
11 Tietze	1981	5	Chen 84*	
12 Uhlig	1981	2		
13 Feldman*	1982	2	Chen 84*, Hochberg 84*, 85a, 85b 1)	
14 Balsan*	1983	2	Liberman 83*, Pike 84*	
15 Hochberg*	1984	2	Chen 84*, Hochberg 85a, 85b	
16 Adams*	1984	2		
17 Fraher*	1984	1		
18 Castells*o	1984	1	Castells 85*o, 86*	
19 Pike*o	1984	3	Gamblin 85*, Liberman in Vorbereitung	2)
20 Siver	1985	3		
9a Hochberg ^o	1985a	1	Hochberg in Vorbereitung	3)
21 Hirst ^o	1985	2		
22 Castells*o	1985	2		
23 Walka*o	1985	2	Walka in Vorbereitung	
45 Patienten				

1) Eines der beiden Kinder wird erst in Hochberg 84 beschrieben.

2) In Pike 1984 werden drei neue Patienten marginal erwähnt. Einer von diesen ist in Gamblin 1985 erneut erwähnt und soll ausführlich von Liberman veröffentlicht werden.

3) Der Patient ist Cousin des Patient von Beer und gehört somit der Familie 9 an.

Tabelle 6: Übersicht über wichtige anamnestiche Daten der veröffentlichten VDAR II-Patienten.

HOCHBERG 9a und PIKE 19 wurden nicht berücksichtigt, weil keine entsprechenden Angaben über sie vorliegen.

kA = keine Angabe * = persönliche Mitteilung

Nr.	Autor	Konsan- guinität	Alopezie	Todes- fälle	Todesursachen
1	Brooks	-	-	-	
2	Marx	-	-	-	
3	Rosen	+	+	-	
4	Balsan	+	+	3	schwere Hypokalzämie; rachitische Pneumopathie
5	Zerwekh	-	-	-	
6	Liberman	+	+	1	Bronchopneumie
7	Sokalosky	+	+	-	
8	Tsuchiya	+	+	-	
9	Beer	-	+	-	
10	Kudoh	-	-	-	
11	Tietze	-	+	5*	Rechtsherzversagen infolge Bronchopneumonie
12	Uhlig	-	+	-	
13	Feldman	+	+	-	
14	Balsan	+	+	1	Masernpneumonie
15	Hochberg	-	+	-	
16	Adams	-	-	-	
17	Fraher	+	-	1	Bronchopneumonie
18	Castells	-	+	-	
20	Silver	+	+	2	kA
21	Hirst	+	+	-	
22	Castells	kA	-	1	kA
23	Walka	+	-	1	Rechtsherzversagen infolge Pneumonie
Summe		11+ / 10- (Familien)	14+ / 8- (Familien)	15 (Patienten)	

In früheren Zusammenstellungen von VDAR II-Fallberichten wurden gelegentlich zwei weitere Familien zitiert (ADAMS et al. 1979 und FUJITA et al. 1980).

ADAMS et al. beschrieben in einem Abstract zwei Geschwister mit nicht bzw. kaum erhöhten 1,25(OH)D-Serumspiegeln vor Therapie (54 bzw. 93 pg/ml). Es liegen keine Angaben über Therapie und Verlauf vor; Ergebnisse von Fibroblastenkulturen wurden nicht veröffentlicht. Meines Erachtens gibt es somit keine ausreichenden Hinweise, daß die Geschwister an VDAR II erkrankt sind. Bezeichnend ist auch, daß der Autor in einer späteren Veröffentlichung eines anderen VDAR II-Patienten (ADAMS et al. 1984) seine beiden anderen Patienten nicht mehr erwähnt.

FUJITA et al. 1980 beschrieben einen Patienten, dessen Osteomalazie im Alter von 45 Jahren beginnt. Damit fällt der Patient aus dem Rahmen der anderen Patienten, bei denen der Krankheitsbeginn zwischen dem 1. und 15. Lebensjahr lag. Die 1,25(OH)D-Serumkonzentration wurde nicht gemessen, und es wurde keine Fibroblastenkultur angelegt. Die Erkrankung scheint eher auf eine Störung im PTH-Stoffwechsel zurückzugehen, obwohl ihre Ursache letztlich im Unklaren bleibt. Es liegen also keine sicheren Hinweise auf eine VDAR II vor.

3.2.1 Therapie und Verlauf

Bei 31 Patienten sind Therapie und Verlauf dokumentiert (Tabelle 7). Bei 20 Patienten trat unter Vitamin D-Therapie eine Besserung ein. Die zur Heilung bzw. Gesunderhaltung erforderlichen Tagesdosen lagen bei 4.000 - 7 Mio. IE D_2 oder D_3 (n = 10; Median 40.000), 50 bis 1.500 μg 25(OH)D (n = 4; Median 200), 7,5 bis 20 μg 1,25(OH)D (n = 8; Median 16), und 2 bis 90 μg 1a(OH) D_3 (n = 4; Median 10 - 60 $\mu g/kg$ KG).

Bei einem dieser 20 Patienten (4) trat unter 4 - 8 μg 1(OH) D_3 eine drei Jahre dauernde Heilungsphase auf, der anschließende Rückfall ließ sich weder mit 20 μg 1a(OH) D_3 noch mit bis zu 5 000 μg 25(OH)D verhindern.

11 Patienten sprachen nicht auf eine Vitamin D-Therapie an. Die angewendeten Höchstdosen lagen bei 75 000 bis 600 000 IE D_2 oder D_3 , 5000 μg 25(OH)D und 6 bis ca. 60 μg 1,25(OH)D und 1(OH) D_3 .

Bei 6 Patienten liegen Hinweise auf eine Remission vor (1, 4, 6, 13A, 15A und 16), deren Stichhaltigkeit in Kapitel 7.5.2 diskutiert wird.

Tabelle 7: Übersicht über die bei den VDAR II-Patienten angewendeten Therapieformen und ihre Wirkungen

Angegeben sind die Tagesdosen von Vitamin D und seinen Metaboliten sowie von intravenösem Kalzium. Die Vitamin-D-Therapie erfolgte per os, wenn nicht anders angegeben. Orale Substitution von Mineralien, die bei den meisten Patienten in wechselnden Dosierungen durchgeführt wurde, ist in der Tabelle nicht berücksichtigt.

Bei mehreren Patienten in einer Familie sind die Daten nach Verfügbarkeit einzeln Angegeben (A), (B) oder zusammengefaßt (2), (3). Über Pike 19 liegen keine Daten vor. Soweit möglich, wurde auch die Dauer der jeweiligen Therapie in Tagen (d), Monaten (M) oder Jahren (J) angegeben.

- + bedeutet Heilung oder deutliche Besserung,
- (+) leichte Besserung,
- keine Veränderung oder Verschlechterung.

Fragliche Remissionen wurden mit R markiert.

KO Körperoberfläche * Persönliche Mitteilung

<u>Nr.</u>	<u>Autor</u>	<u>Therapie</u>	<u>Zustand des Patienten</u>
1	Brooks	4 000 IE D ₃ 50 000 IE D ₃ Ø Therapie	(1M) + (3M) + (3J) + R
2	Marx (A)	5 - 20 000 IE D _{2/3} 200 µg 25(OH)D 12 - 15 µg 1,25(OH)D Ø Therapie	+ + + -
	(B)	2 - 10 000 IE D _{2/3} Ø Therapie 200 µg 25(OH)D 17 µg 1,25(OH)D	+ - + +
3	Rosen (A)	7,5 µg 1,25(OH)D	+
	(B)	7,5 µg 1,25(OH)D	+
4	Balsan	150 000 IE D ₂ 1 - 8 µg 1,25(OH)D 0,5 - 1,5 mg 25(OH)D 8 - 4 µg 1a(OH)D 6 -20 µg 1a(OH)D 1-5 mg 25(OH)D 750 mg Ca iv	(12M) - (5M) - (4M) (+) R (3J) + R (12M) - (18M) - +
5	Zerwekh (B)	40 000 IE D ₂ Ø Therapie 100 - 680 000 IE D ₂ 50 µg 25(OH)D 17 µg 1,25(OH)D	(+) - (7M) - + +
6	Liberman	-1,2 Mio IE D ₂ Ø Therapie wechselnde Therapien -8 µg 1a(OH)D -0,7 mg DHT 1-20 µg 1,25(OH)D iv (20d) 2 µg 24,25(OH)D und 2 µg 1a(OH)D Ø Therapie	(4M) - (2,5J) (+) - (2M) - (1M) - - + R + R

Fortsetzung Tabelle 7:

7	Sockalosky	180 000 IE D ₂	(2J)	-
		- 8 µg 1,25(OH)D		-
8	Tsuchiya	4 Mio IE D ₂		+
		3-150 µg 1a(OH)D	(4M)	-
		5 µg 1,25(OH)D	(15d)	-
		3-7 Mio IE D ₂		+
9	Beer	200 000 IE D ₂	(4M)	-
		4 µg 1a(OH)D	(1M)	-
		6 µg 1,25(OH)D	(16d)	-
		1-4 µg 1,25(OH)D	(19d)	-
10	Kudoh	25 000 IE D ₂	(1M)	(+)
		Ø Therapie		-
		90 µg 1a(OH)D		+
11	Tietze (3)	-600 000 IE D ₃		-
		0,5 µg/kg KG 1,25(OH)D		-
12	Uhlig (A)	6 µg 1,25(OH)D	(3M)	-
		1-4 Mio IE D ₃ *		+
	(B)	0,6-3 Mio IE D ₃ *		+
13	Feldman (A)	60 000 IE D ₂	(6J)	-
		50 000 IE D ₂		+ R
		10-60 µg/m ² KO 1a(OH)D	(8M)	+ R
	(B)	60 000 IE D ₂	(3J)	-
		10-60 µg/m ² KO 1a(OH)D	(8M)	-
14	Balsan	5-20 µg 1a(OH)D	(8M)	-
		20 µg 1,25(OH)D	(20d)	-
		1- 5 mg 25(OH)D	(22M)	-
15	Hochberg (A)	60 000 IE D ₂	(5J)	-
		60 000 IE D ₂		(+) R
		10-60 µg/m ² KO 1a(OH)D	(8M)	(+) R
	(B)	10-60 µg/m ² KO 1a(OH)D	(8M)	-
16	Adams	0,25 µg/kg KG 1,25(OH)D		+ R
		20 - 40 000 IE D ₂		+ R

Fortsetzung Tabelle 7:

17	Fraher	-2 µg 1,25(OH)D	(3M)	-
		12 µg 1α(OH)D und		
		4 µg 24,25(OH)D		-
18	Castells	20 µg 1,25(OH)D		+
20	Silver	850 000 IE D ₂		(+)
21	Hirst	(2) 1,25(OH)D "sehr hoch dosiert"		+
22	Castells	20 µg 1,25(OH)D		+
23	Walka	(A) 4-12 µg 1α-(OH)D	(1M)	-
		12-99 µg 1,25(OH)D	(2M)	-
		5-10 Mio IE D ₃	(2M)	-
		740 mg Ca iv		+
		(B) 50 - 75 000 IE D ₃ i.m.	(1M)	-

3.2.2 Serumspiegel der Vitamin D-Metabolite

Die 1,25(OH)D- und 25(OH)D-Werte vor und während Therapie sind in Tabelle 8 zusammengefaßt. Bei 22 Patienten wurde der 1,25(OH)D-Serumspiegel vor Therapie gemessen. Er lag bei 21 Patienten 2 - 13fach über der oberen Normgrenze (132 - 1000 pg/ml), nur Patient 14 lag mit 66 pg/ml im Normbereich.

Bei 19 Patienten wurde 25(OH)D im Serum vor Therapie bestimmt. Bei keinem Patienten wurden deutlich erniedrigte 25(OH)D-Werte gefunden, wie sie bei Vitamin D-Mangel üblich sind. In 16 Fällen lagen die Werte in oder knapp über dem Normbereich, in 13 Fällen bis zu vierfach darüber. Hierbei scheint eine Auswirkung länger zurückliegender Therapien mit Vitamin D oder 25(OH)D nicht ausgeschlossen.

Die gebesserten oder geheilten Patienten zeigten 1,25(OH)D-Spiegel zwischen 64 und 6 600 pg/ml; bei den Patienten mit niedrigen Serumwerten (64 - 118 pg/ml) ist die Frage einer Remission zu diskutieren.

Die nicht gebesserten Patienten zeigten 1,25(OH)D-Serumspiegel zwischen 108 und 18 900 pg/ml (mehr als 250fach über der Norm!). Die 25(OH)D-Werte lagen bei den gebesserten Patienten zwischen 16 und 4 246 ng/ml, bei den nicht gebesserten zwischen 36 und 1 032.

Die 24,25(OH)D-Serumwerte (Tabelle 9) lagen vor Therapie zwischen 0,4 und 2,5 ng/ml ($n = 6$; Normbereich 0,8 bis 3,7). Unter Therapie wurde 24,25(OH)D bei 11 Patienten bestimmt. Bei acht lagen die Werte zwischen 0,7 und 3,6 ng/ml, bei drei Patienten betrugen sie bis zu 10,0 und 35 ng/ml. Sowohl hohe als auch niedrige Werte traten bei gebesserten und ungebesserten Patienten auf, so daß kein Zusammenhang zwischen 24,25(OH)D-Serumspiegel und Therapieerfolg zu bestehen scheint.

Tabelle 8: 1,25(OH)D- und 25(OH)D-Serumspiegel der VDAR II-Patienten vor und während Therapie

Werte vor Therapie wurden in die Tabelle aufgenommen, wenn aus den Berichten hervorgeht, daß den Patienten einige Monate weder Vitamin D noch seine Metabolite verabreicht wurden.

- + bedeutet Heilung oder deutliche Besserung
- (+) leichte Besserung
- keine Veränderung oder Verschlechterung

Fragliche Remissionen wurden mit R markiert.

Es folgen die Serumspiegel, bei denen eine Besserung sichtbar war bzw. mit denen kein Therapieerfolg erzielt werden konnte. 1,25(OH)D ist in pg/ml angegeben, 25(OH)D in ng/ml. Die Normalwerte der verschiedenen Labors differieren etwas; für 1,25(OH)D liegen sie bei 20 - 75, für 25(OH)D bei 10 - 120. Bei mehreren untersuchten Patienten in einer Familie sind die Daten je nach Verfügbarkeit einzeln angegeben - A, B - oder zusammengefaßt (2), (3); n bedeutet im Normbereich.

Nr. Autor		Werte vor Therapie		Werte während Therapie		
		1,25(OH)D	25(OH)D	1,25(OH)D	25(OH)D	
1	Brooks	137	14	R +	297	29 1)
2	Marx A	213	25	+		
	B	280	44	+	220-640	22-134 2)
3	Rosen A	169	145	+		
	B	142	143	+		
4	Balsan			R +	452-2910	82-267 3)
				-	9200-18900	491-992
5	Zerwekh	212	19	+	146-233	36-64
6	Liberman	674	21	+	339	18-23
7	Sockalosky	>200	35	-		900
8	Tsuchiya			+	4800	4250
9	Beer	916	32	-		131
10	Kudoh	132	27	+		
11	Tietze (3)	360-460	51-54	-	818-912	350
12	Uhlig A			+	6600	20fach
	B	>360		+	5600	erhöht
13	Feldman A			R +	83	29
	B			-	108	66
14	Balsan	66	28	-	10880	553
15	Hochberg A			R(+)	118	16
	B			-	112	36
16	Adams		39	R +	64	132
17	Fraher	1000	n	-		
18	Castells	319	26	+	468	

Fortsetzung Tabelle 8:

Nr.	Autor	Werte vor Therapie		Werte während Therapie	
		1,25(OH)D	25(OH)D	1,25(OH)D	25(OH)D
20	Silver	>500	12	(+)	
21	Hirst	150		+	
22	Castells			+ >4000	
23	Walka	320	539	- 7484	1032

- 1) Die Patientin zeigte während einer beschwerdefreien Schwangerschaft ohne Vitamin D-Therapie 1,25(OH)D-Serumwerte zwischen 127 und 268 pg/ml; post partum 98 pg/ml 1,25(OH)D, 9 ng/ml 25(OH)D.
- 2) Die Patientin zeigte während einer beschwerdefreien Schwangerschaft mit einer Therapie von 17-36 µg/d 1,25(OH)D Serumspegel von 170 - 680 pg/ml für 1,25(OH)D und 35 - 69 ng/ml für 25(OH)D.
- 3) Es wurden die Werte unter Therapie unter Remission (+) und nach (-) dem Rückfall angegeben.

Tabelle 9: 24,25(OH)D-Serumspiegel der VDAR II-Patienten vor und während Therapie in ng/ml

Die Normalbereiche der verschiedenen Labors liegen bei 0,8 - 3,0; Tsuchiya gibt mit 2,7 - 3,7 einen etwas anderen Normalbereich an. Bei mehreren untersuchten Patienten in einer Familie sind die Daten je nach Verfügbarkeit einzeln angegeben (A), (B) oder zusammengefaßt (2). Hinter den Werten unter Therapie ist die Zahl der Bestimmungen angegeben.

Nr.	Autor	vor Therapie		unter Therapie	
2	Marx (A)	1,0			
	(B)	2,5		0,8 - 3,6	(3)
4	Balsan			1,3 - 10,0	(35)
6	Liberman	<0,4		1,9	
8	Tsuchiya			35	
9	Beer			1,0	
13	Feldman (A)			2,1	
	(B)			2,3	
14	Balsan	0,7 - 1,3		<0,8 - 11,7	(28)
15	Hochberg (A)			0,8	
	(B)			0,7	
21	Hirst (2)	0,4 - 1,1			
23	Walka	0,3		1,4	

3.2.3 Fibroblastenkulturen

Bei 24 Patienten wurden Untersuchungen an Fibroblastenkulturen durchgeführt (Tabelle 10). Die Methoden sind in Kapitel 5.6.1 beschrieben.

Fünf Patienten zeigten normale spezifische Bindung von $1,25(\text{OH})\text{D}$ an seinen Rezeptor in Zytosol und Zellkern (Gruppe I), ein Patient zeigte Rezeptorbindung in Zytosol und Zellkern mit deutlich verminderter Kapazität (II), sechs weitere nur im Zytosol und nicht im Kern (Gruppe III), die restlichen zwölf weder im Zytosol noch im Kern (Gruppe IV).

Bei einigen Patienten wurden die Untersuchungen auch an Zellkulturen der Eltern durchgeführt (Familien 2-6, 9, 11, 13-15). Alle Ergebnisse mit Ausnahme des Vaters von Patient 11 lagen im Normbereich. Dieser zeigte normale Affinität, aber nur die Hälfte der normalen Kapazität der Rezeptorbindung im Zytosol.

Bei 16 Patienten wurde die Fähigkeit der Zellen getestet, nach Inkubation mit $1,25(\text{OH})\text{D}$ aus $25(\text{OH})\text{D}$ $24,25(\text{OH})\text{D}$ zu bilden (Methodenbeschreibung siehe Kapitel 5.6). Bei 10 Patienten zeigte sich die 24-OHase selbst bei 100fach erhöhten Inkubationskonzentrationen nicht stimulierbar. Bei 6 Patienten lag eine subnormale Induzierbarkeit (2 - 81 % der Kontrollen) vor, allerdings bei zum Teil wesentlich höheren Inkubationskonzentrationen. In allen drei Gruppen, in denen die 24-OHase gemessen wurde, gab es induzierbare und nicht induzierbare 24-OHase-Aktivitäten.

Von PIKE et al. 1984 wurden die Zellen von 8 Patienten mit einem Radioimmunoassay und einem monoklonalen Antikörper auf Anwesenheit des Rezeptormoleküls untersucht. Bei allen Patienten, die aus den vier Gruppen mit den verschiedenen Defekten stammten, konnten Rezeptoren nachgewiesen werden. Die Rezeptoranzahl lag zwischen 36 und 110 % von Kontrollen.

Tabelle 10: Ergebnisse der Fibroblastenkulturen aus Hautbiopsien von VDAR II-Patienten

Da die verschiedenen Labors etwas differierende Normalwerte angeben, sind alle Angaben der Tabelle in Prozent des jeweiligen Normbereiches umgerechnet. Bestimmt wurden Affinität (Aff) und Kapazität (Kap) der spezifischen Bindung von 1,25(OH)D an seinen Rezeptor in Zytosol und Zellkern, die Induzierbarkeit der 24-Ohase nach Inkubation mit 1,25(OH)D als Maß für Funktion eines Vitamin D-abhängigen Enzymsystems und die Präsenz von 1,25(OH)D-Rezeptoren im Zytosol mit einem RIA. Die Methodik Rezeptorbindungstest und 24-Ohase-Induktion wird ausführlich in Kapitel 5.6.1 beschrieben.

um bedeutet unmeßbar niedrige Werte

+ Rezeptorbindung nachweisbar, aber nicht quantifiziert

I Rezeptorbindung in Zytosol und Zellkern im Normbereich (Postrezeptordefekt)

II Rezeptorbindung in Zytosol und Zellkern mit stark verminderter Kapazität

III Rezeptorbindung im Zytosol, aber nicht im Zellkern nachweisbar

IV Rezeptorbindung weder im Zytosol noch im Zellkern nachweisbar

Nr.	Autoren	Zytosol Aff	Zytosol Kap	Zellkern Aff	Zellkern Kap	Induktion 24-Ohase	Alopezie	Rezeptoren-nachweis (RIA)
I	5 Zetwekh	250	81		88	10	-	
	6 Liberman	118	131	167	45	um		
	19 Pike (a)	+	+	+	+	um		110
	21 Hirst (A)	91	100	63*	49	um	+	
		79	161	61*	53	um	+	
II	14 Balsan	87	12	60	8			75
III	2 Marx (A)	76	54	um	um	32	-	89
		34	51	um	um			
	3 Rosen (A)			um	um			
		3	80	um	um	81	+	107
	18 Castells (B)	5	59	um	um	um	+	
	22 Castells	7	94			6	-	
IV	16 Adams	um	um	um	um	8	-	
	17 Fraher	um	um	um	um	2	-	
	4 Balsan	um	um	um	um			63
	9 Beer	um	um	um	um			36
	19 Pike (b)	um	um	um	um			75
		um	um	um	um			81
		um	um	um	um			
	8 Tsuchiya (c)	um	um	um	um			
	11 Tietze	um	um	um	um	um	+	
	13 Feldman (2)	um	um	um	um	um	+	
	15 Hochberg (B)	um	um	um	um	um	+	
	23 Walke	um	um	um	um	um	-	

* Hirst bestimmte die Affinität von 1,25(OH)D zu seinem Rezeptor nicht im Zellkern wie die anderen Autoren nach Scatchard 1949, sondern durch Auswaschen des rezeptorgebundenen, radio-markierten 1,25(OH)D aus dem Zellkern mit steigenden Konzentrationen von Kaliumchlorid (HIRST et al. 1985).

3.2.4 Bilanzierungen des Mineralhaushaltes

Nettobilanzen des Kalzium- und Phosphathaushalts wurden von einigen Autoren in ähnlicher Weise durchgeführt: Nach der letzten Diät- und Therapieänderung wurde einige Tage gewartet, damit sich ein neues Fließgleichgewicht im Mineralhaushalt einstellen konnte. Dann wurde für 3 - 6 Tage der Kalzium- bzw. Phosphatgehalt von Nahrung, Stuhl und Urin gemessen und die Tagesmittel berechnet.

Andere Autoren verwendeten radioaktive Kalziumisotope, die heute bei Kindern aus Strahlenschutzgründen nicht mehr vertretbar sind. Die unterschiedlichen Methoden werden im folgenden in groben Zügen den jeweiligen Resultaten vorangestellt.

MARX et al. 1978

Es wurde die Kalziumretention im gesamten Körper 7 Tage nach oraler Gabe von 2 $\mu\text{Ci Ca}^{47}$ zusammen mit 90 mg Kalzium als Träger gemessen.

	vor Therapie	200 μg 25(OH)D/d (2 Wochen)	1,5 Jahre ohne Therapie
Patient A	26 %	64 %	19 %
Patient B	30 %	89 %	-
Norm	33 - 43 %		

ROSEN et al. 1979

Nettobilanzen vor Therapie in mg/d

	Patient A		Patient B		Normwerte	
	Ca	P	Ca	P	Ca	P
Nahrungsaufnahme	546	730				
Stuhlausscheidung	670	470				
Differenz	-12	+260				
Urinausscheidung	16	456				
Gesamtbilanz	-140	-196	- 55	- 95	+ 75	+ 68

Unter Therapie mit 0,5 µg 1,25(OH)D/d für 3 Wochen war keine signifikante Änderung obiger Werte bei den Patienten zu beobachten.

ZERWEKH et al. 1979

Die Patientin erhielt eine Flüssignahrung mit 800 mg Ca/d (etwa 15 mg/kg KG und Tag). Die Nettobilanz wurde bestimmt wie oben angegeben. Zusätzlich wurde die korrigierte Kalziumabsorption bestimmt. Zu Beginn der Sammelperioden wurden jeweils 5 µCi Ca⁴⁷ intravenös verabreicht und die anschließend im Stuhl ausgeschiedene Radioaktivität gemessen. Daraus ließ sich die Menge körpereigenen Kalziums, die in den Stuhl sezerniert wurde - endogenous fecal calcium (EFC) - berechnen. Die korrigierte Kalziumabsorption war dann:

$$A_K = \frac{\text{Nahrungskalzium} + \text{EFC} - \text{Stuhlkalzium}}{\text{Nahrungskalzium}} \cdot 100 \%$$

	Nettobilanz im mg/d		A _K
	Kalzium	Phosphat	Kalzium
vor Therapie	- 232	- 122	26 %
20 µg 25(OH)D/d (3 Mon)	+ 48	+ 111	30 %
50 µg 25(OH)D/d (3 Mon)	+ 160	+ 123	47 %
50 µg 25(OH)D/d (9 Mon)	+ 71	+ 55	31 %

LIBERMAN et al. 1980

Bezüglich der Methodik verweist der Autor auf eine frühere Arbeit, in der mehrere Methoden zur Bestimmung des Kalziumstoffwechsels beschrieben sind (LIBERMAN et al. 1968). Wahrscheinlich wurde eine korrigierte Kalziumabsorption - wie im vorhergehenden Absatz beschrieben - und eine Phosphatabsorption aufgrund einer Nettobilanz angegeben.

Die intestinale Absorption von Kalzium vor Therapie betrug 28 %, die von Phosphat 70 %.

Unter 1 bis 2 µg 1,25(OH)D/d, intravenös verabreicht, wurden die Werte als unverändert bezeichnet.

TSUCHIYA et al. 1980

Die Patientin erhielt etwa 2 g Kalium pro Tag als Laktat. Kalzium₄₇ wurde mit 3,6 mg CaCl als Träger oral gegeben und in Blutentnahmen 30, 60, 120, 180 und 240 Minuten später gemessen. Es werden die Maximalwerte in % der applizierten Dosis im Plasma dividiert durch die Körperoberfläche angegeben.

1 Jahr ohne Therapie	2,2 %
7 Mio IE D ₃ /d	5,6 %
Kontrollen (n = 25)	7,0 +/- 1,6 % SD

BEER et al. 1981

Nettobilanz vor Therapie in mg/d

	Ca	P
Nahrungsaufnahme	122	274
Stuhlausscheidung	158	143
Differenz	- 36	+ 131
Urinausscheidung	3	187
Nettobilanz	- 39	- 56

3.2.5 Hämatologische Befunde

In keinem der vorliegenden Fallberichte sind auffallende hämatologische Befunde vermerkt. In einigen Arbeiten wird von normalen Hämoglobinkonzentrationen und -elektrophoresen sowie unauffälligen kleinem oder großem Blutbild berichtet. Bei vielen Patienten werden keine diesbezüglichen Angaben gemacht. Man kann also davon ausgehen, daß die routinemäßig überprüften hämatologischen Parameter wie Hämoglobinkonzentration, Erythrozytenzahl und Blutbild unauffällig waren.

In keinem Fallbericht finden sich Hinweise auf eine Hepatosplenomegalie oder andere Befunde einer extramedullären Blutbildung.

3.2.6 Immunologische Befunde

Immunologische Befunde werden in keinem Fallbericht erwähnt. Bei keinem Patienten wird von vermehrter Infektanfälligkeit berichtet.

Bei allen verstorbenen Patienten, bei denen eine Todesursache angegeben ist, war eine Pneumonie mittelbar oder unmittelbar für den Tod verantwortlich. Dies ist ein Hinweis darauf, daß die Patienten mit ihrem gestörten Vitamin D-Stoffwechsel auf schwere Infektionen, insbesondere der Lunge, nicht adäquat reagieren können.

WEISMANN et al. 1985 haben drei VDAR II-Familien (13, 15, 9a) immunologisch untersucht. Dabei wurden folgende Untersuchungen durchgeführt:

- T-Lymphozyten wurden mit monoklonaler Antikörpern klassifiziert. Alle Patienten hatten normale Verhältnisse von B- zu T-Zellen und von Helfer- (35 - 75 %) zu Suppressor- (13- 27 %) Zellen.
- Bei einem Patienten wurde die Monozytenchemotaxis auf N-Formyl-Methionyl-Leucyl-Phenylalanin bestimmt. Es konnte kein Unterschied zu Kontrollen festgestellt werden.
- Der endotoxinstimulierte Nitroblautetrazoliumtest war bei den Granulozyten aller Patienten normal.
- Phagozytose und intrazelluläre Abtötung von *Candida albicans* und *Staphylokokkus aureus* durch Granulozyten wurden untersucht. Dabei war die phagozytotische Aktivität gegenüber beiden Mikroorganismen normal. Auch die Abtötung intrazellulärer *Staphylokokken* war mit 107,6 +/- 3,1 % der Kontrollen normal. Signifikant vermindert war aber die Abtötung intrazellulär aufgenommener *Candida* (s. Tabelle 11).

Tabelle 11:

Ingestion und Abtötung von *Candida albicans* durch Granulozyten von 5 VDAR II-Patienten (m +/- SEM) modifiziert nach WEISMAN et al. 1985).

	intrazellulär aufgenommene <i>Candida albicans</i>	Abtötungsrate der aufgenommenen <i>Candida albicans</i>
Patienten (n = 5)	40,1 +/- 9,2 %	31,1 +/- 2,2 %
Kontrollen	53,5 +/- 2,3 %	83,8 +/- 5,1 %
	(p > 0,05)	(p < 0,01)

Es wurden auch Lymphozytentransformationstests mit Phytohämagglutinin und Concanavalin A mit und ohne Zugabe von 1,25(OH)D an den gleichen fünf Patienten durchgeführt (KOREN et al. 1985). Dabei war ohne Vitamin D-Zugabe die Neusyntheserate von DNA, gemessen durch tritiummarkiertes Thymidin, bei allen Patienten im Normbereich. Die Lymphozytentransformation gesunder Kontrollpersonen wurde durch Zugabe physiologischer 1,25(OH)D-Konzentrationen (10^{-10} - 10^{-9} M) zu 40 - 60 % (n = 24) inhibiert. Bei den Patienten trat bei Zugabe steigender 1,25(OH)D-Konzentrationen dieser Effekt nicht auf.

In T-Lymphozyten konnten nach Aktivierung 1,25(OH)D-Rezeptoren nachgewiesen werden (BHALLA et al. 1983). Bei den fünf Patienten der Studie von KOREN et al. 1985 konnten auch nach Aktivierung keine Rezeptoren nachgewiesen werden. Somit verhalten sich die aktivierten Lymphozyten hinsichtlich der 1,25(OH)D-Rezeptoren wie die Fibroblasten der Patienten.

3.2.7 Alopezie

In 14 von 22 Familien (64 %) zeigen die VDAR II-Patienten Alopezie (siehe Tab. 6). Eine aktuelle Zusammenfassung des Wissensstandes zeigt die Arbeit von MARX et al. (im Druck):

- Innerhalb einer Familie tritt die Alopezie entweder bei allen an VDAR II Erkrankten auf oder bei keinem.

- VDAR II scheint bei Patienten mit Alopezie schwerer zu verlaufen: Sie beginnt früher (0,9 gegenüber 3,3 Jahren), die Kalziumserumspiegel sind niedriger (1,95 gegen 2,35 mmol/l) trotz höherer 1,25(OH)D-Serumspiegel (3200 gegenüber 300 pg/ml).
- Zwischen der Alopezie und dem Typ des Defekts in vitro scheint kein Zusammenhang zu bestehen.
- Im 24-OHase-Test zeigen die Zellen der Patienten mit Alopezie schwerere Defekte: Bei 7 von 8 Patienten mit Alopezie war keine 24-OHase-Induktion meßbar, während bei 5 von 6 Patienten mit normalem Haar 24-OHase-Aktivität zu messen war.

Insgesamt scheint also Alopezie und schwerer Verlauf von VDAR II gekoppelt zu sein. Unser Patient bildet eine Ausnahme von dieser Regel; er ist trotz normalen Haars einer der am schwersten erkrankten Patienten (siehe Kapitel 7.5.1).

Die pathophysiologischen Zusammenhänge sind ungeklärt, insbesondere die Frage, warum die Alopezie gehäuft bei VDAR II, aber bei keiner anderen Vitamin D-Stoffwechselstörung auftritt. MARX (1984) stellte drei Hypothesen zur Assoziation von Alopezie und VDAR II auf:

- 1) Eine rezeptorvermittelte 1,25(OH)D-Wirkung scheint für normalen Haarwuchs notwendig. Dafür spricht der autoradiographische Nachweis von 1,25(OH)D-Rezeptoren am Haarschaft (STUMPF et al. 1981). Es ist bisher unklar, ob 1,25(OH)D für die Ontogenese und/oder Funktion der Haarwurzel notwendig ist. Für ersteres spräche die Irreversibilität der Alopezie, für letzteres der zum Teil späte Beginn der Alopezie im 15. Lebensmonat.
- 2) Eine durch den 1,25(OH)D-Rezeptordefekt verursachte Stoffwechselstörung ist für die Alopezie verantwortlich. Das einzige bisher bekannte Merkmal, das nur bei VDAR II und keiner anderen Vitamin D-Stoffwechselstörung auftritt, sind exzessiv hohe 1,25(OH)D-Serumkon-

zentrationen. Möglicherweise sind sie für eine pränatale, irreversible Schädigung der Haarwurzel verantwortlich.

- 3) Eine genetische Kopplung als Ursache für das gemeinsame Auftreten von VDAR II und Alopezie ist wenig wahrscheinlich, weil verschiedene Rezeptordefekte (siehe 3.2.3) mit der Alopezie vergesellschaftet auftreten.

Die Überprüfung dieser Thesen verspricht neue Erkenntnisse über die Pathophysiologie der VDAR II.

3.2.8 Dentale Defekte

Etwa die Hälfte der Kinder, die an Vitamin D-Mangelrachitis leiden, zeigen Schmelzhypoplasien (WEINMANN 1983). Typisch sind horizontale Grübchen im Schmelz, die meist Verfärbungen zeigen.

Betroffen ist die Schmelzzone, die zur Zeit des Vitaminmangels gebildet wurde; die Größe des Defekts ist proportional zur Dauer des Mangels.

Die Zahnbefunde bei VDAR I entsprechen denen bei Vitamin D-Mangel, während bei FHR das Dentin stärker als der Schmelz betroffen ist (DENT et al. 1968). Das reflektiert die Tatsache, daß bei VDMR und VDAR I der Vitaminmangel gemeinsames pathophysiologisches Agens ist, während FHR, bei der neben der Regulationsstörung für $1,25(\text{OH})\text{D}$ die renale Phosphatrückersorptionsstörung wesentlich ist, eine eigenständige Entität bildet.

Über Zahnbefunde bei VDAR II gibt es noch keine ausführliche Veröffentlichung; in den Fallberichten werden die Zähne, wenn überhaupt, nur mit wenigen Worten erwähnt: Acht Autoren (1,4, 6,7,10,14,17 und 20) beschrieben pathologische Befunde, die von gestörter Dentition über Gelbfärbungen, Verlust der Lamina dura und Karies bis zu Zahnausfall reichen. Zwölf Autoren erwähnen keine Zahnbefunde, zwei (2 und 9) berichten einen unauffälligen Zahnstatus.

Auf zellulärer Ebene ist noch kein überzeugendes Modell für eventuelle Wirkungen von 1,25(OH)D gefunden worden (BAWDEN et al. 1983). In autoradiographischen Studien an Ratten konnten 1,25(OH)D-Rezeptoren in Pulpazellen, aber nicht in Odonto- und Ameloblasten nachgewiesen werden (KIM et al. 1983): Es ist also nicht unwahrscheinlich, daß rezeptorvermittelte 1,25(OH)D-Wirkungen bei der Zahnbildung eine Rolle spielen.

4. KRANKENGESCHICHTE

Am 13.06.1984 wurde A. M. aus den Vereinigten Arabischen Emiraten (VAE) nach München eingeflogen und im Dr. von Haunerschen Kinderspital der Universität stationär aufgenommen. Die Einweisungsdiagnose lautete: "Rachitische Erkrankung unklarer Genese".

4.1. Aufnahmeuntersuchung

Der Patient wurde am 30.09.1982 geboren und war bei der Aufnahme somit 20 Monate alt. Er war 68 cm groß und 6,46 kg schwer; beide Werte lagen erheblich unter der 3. Perzentile (siehe Abb. 18 im Anhang). Der Kopfumfang von 46 cm lag knapp unter der 3. Perzentile. Allgemein- und Ernährungszustand waren deutlich reduziert, der Hautturgor normal. Die Körpertemperatur betrug 36,4⁰. Das Kind zeigte hypotone Körperhaltung und auffällige Bewegungsarmut. Es wimmerte ständig vor Schmerzen. Insgesamt machte A. M. einen schwerkranken Eindruck (siehe Anhang Abb. 19).

Auffälligster pathologischer Befund waren die Skelettdeformationen: Variform gebogene Arme und Beine mit stark aufgetriebenen Hand- und Sprunggelenken (Marfansche Doppelhöcker). Die große Fontanelle war 1 x 1,5 cm offen, ein Kraniotabes deutlich tastbar. Am glockenförmigen Thorax sah man einen rachitischen Rosenkranz, die Brustwirbelsäule zeigte eine rechtskonvexe Kyphoskoliose. Die Beweglichkeit der Gelenke erschien nicht wesentlich eingeschränkt; allerdings wehrte sich das Kind schreiend gegen die Untersuchung, offensichtlich wegen starker Knochen-schmerzen. Es konnte sich ohne Unterstützung nicht in sitzender Stellung halten und sank in sich zusammen. Die Muskulatur war hypoton, die grobe Kraft vermindert.

Weiter fiel eine Tachypnoe von 50 - 60 Atemzügen pro Minute auf. Die Rippen waren so biegsam, daß paradoxe Atembewegungen entstanden. Der Patient konnte dies nur mühsam durch Bauchatmung und erhöhte Atemfrequenz kompensieren.

Im Sitzen nahm die Dyspnoe wegen der Einschränkung der Zwerchfellatmung stark zu. Die Perkussion und Auskultation von Lunge und Herz war unauffällig. Das Abdomen war weich und ohne pathologische Resistenz. Die Leber war gut 3 cm unter dem Rippenbogen tastbar. Ihre Konsistenz erschien vermehrt, die Oberfläche glatt. Die Milz war 5 cm unter dem Rippenbogen und ebenfalls konsistenzvermehrt tastbar. Rachenraum, Haut, Sinnesorgane, Nervensystem, Lymphknoten, Schilddrüse und Genitalien waren unauffällig.

4.2 Anamnese

Die Befragung der Eltern gestaltete sich einigermaßen schwierig; zum Teil konnten wir nur sehr unpräzise oder widersprüchliche Angaben gewinnen.

A. M. kam als viertes von fünf Kindern nach unauffälliger Schwangerschaft termingerecht zur Welt. Die Geburt fand zu Hause statt und war komplikationslos. Das Geburtsgewicht soll etwa 5 Pfund betragen haben. Das Kind wurde zuerst voll, dann teilweise gestillt. Später wurde eine Baby-milchnahrung und kleine Mengen normaler Mischkost zugefüttert. Es ist bemerkenswert, daß die Mutter bei der Aufnahme ihr 20 Monate altes Kind immer noch stillte. Stuhl und Miktion wurden als unauffällig beschrieben. A. M. soll komplett geimpft sein, welche Impfungen im einzelnen durchgeführt wurden, konnten wir nicht erheben. Es wurde keine Rachitisprophylaxe durchgeführt. Das Kind soll viel im Freien gespielt haben und so ausreichend besonnt worden sein. Antikonvulsiva wurden nicht verabreicht.

Die Entwicklung des Kindes verlief normal bis zum 6. - 8. Lebensmonat. Die Mutter gab sogar an, der Junge sei bis dahin das kräftigste ihrer Kinder gewesen. Mit 8 Monaten saß er frei; bis zu diesem Zeitpunkt schien also auch die motorische Entwicklung regelrecht gewesen zu sein.

Dann zeigten sich zunehmend Knochendeformierungen an Armen und Rippen, die körperliche und motorische Entwicklung sistierte.

Mit 16 Monaten, im Januar 1984, wurde A. M. erstmals stationär aufgenommen. Weil sein Zustand sich nicht besserte, blieb er fünf Monate im Al Jazeera Hospital in Abu Dhabi, bis er nach München verlegt wurde. Im folgenden die wesentlichen Angaben aus dem Arztbrief: A. M. war dystroph und apathisch. Er zeigte klinisch und radiologisch die typischen Rachitiszeichen, zusätzlich zahlreiche Grünholzfrakturen. Das Abdomen war weich, die Milz deutlich vergrößert. Labor: Ca 7,9 mg% (Normbereich 8,5 - 10,5), P 2,7 mg% (4 - 7), AP 2.200 U/l (85 - 180), Elektrolyte, Eiweiß, Harnstoff und Kreatinin o. B., Leukozyten 13.500/ μ l mit 21 % Granulozyten, 77 % Lymphozyten, 1 % Monozyten und 1 % Eosinophilen. Es lag eine generalisierte Aminoazidurie vor.

Die Therapie bestand aus 6 000 IE D₃/Tag intramuskulär für einen Monat, gefolgt von 0,5 μ g Alfalcaldidol pro Tag für vier Monate. Da der Zustand des Patienten sich weiter verschlechterte, wurde er nach München überwiesen.

4.3 Familiengeschichte

Die Familie des Patienten stammt aus dem Scheichtum Abu Dhabi der Vereinigten Arabischen Emirate. Der Vater ist etwa 35 Jahre alt und bei der Polizei angestellt, die Mutter ist ca. 30 Jahre alt und Hausfrau. Die Familie lebt in einem Haus mit zwei Zimmern in der Nähe der Oase Al Ain.

Die Eltern sind blutsverwandt: Die Großmutter mütterlicherseits ist eine Tante des Vaters, d. h. die Eltern sind Cousins ersten Grades. Weiter sind die beiden Großväter des Patienten Cousins unbekannten Grades. Es war leider nicht mit Sicherheit zu erheben, ob die Großmutter mütterlicherseits eine Schwester des Großvaters oder der Großmutter väterlicherseits ist. Abbildung 1 verdeutlicht die Verwandtschaftsgrade der Familie.

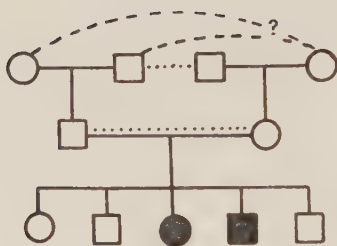


Abb. 1 - Stammbaum der Familie mit den Geburtsjahren der Kinder.

..... Cousins, ----- Geschwister, VDAR II-Patienten. Die Eltern sind Cousins ersten Grades, die Großväter Cousins unbekannten Grades. Die Großmutter mütterlicherseits ist eine Schwester entweder der Großmutter oder des Großvaters väterlicherseits.

Die Eltern haben fünf Kinder: Die 1974 geborene Tochter und der 1975 geborene Sohn sind gesund. Das Mädchen S. M., geboren im Dezember 1978, zeigte ein ähnliches Krankheitsbild wie ihr von uns behandelter Bruder:

Schwangerschaft, Geburt und die ersten acht Lebensmonate waren völlig unauffällig. Zu diesem Zeitpunkt entdeckte die Mutter erste Deformierungen an Thorax und Extremitäten, die sich in der Folge zusehends verschlimmerten. Das Kind litt vermehrt an fieberhaften Infekten und an einem chronischen Husten. Mit 15 Monaten erfolgte die erste stationäre Aufnahme im Al Jimi Hospital wegen einer Pneumonie und schwerer Rachitis. Die folgenden sieben Monate verbrachte das Kind mit zwei kurzen Unterbrechungen in Krankenhäusern. Folgende wesentliche Befunde wurden in dieser Zeit erhoben:

- Floride Rachitis mit allen typischen Zeichen und Kyphoskoliose der Brustwirbelsäule; radiologisch neben Rachitissymptomen zahlreiche Spontanfrakturen.

- Rechtsseitige Mittellappenpneumonie; ein Harnwegsinfekt mit E. coli, eine Otitis media und nicht näher bezeichnete Pilzerkrankungen der Haut.
- Hepatosplenomegalie; die Leber war 3 cm, die Milz 4 cm unter dem Rippenbogen tastbar.
- Mehrfache Beckenkammbiopsien ergaben geringe Mineralisierung des Knochens, eine Fibrose des Knochenmarks und keinerlei Zeichen von Hämatopoese.
- Die Leukozyten lagen zwischen 10 700 und 18 400 pro μ l mit 2 % Metamyelozyten, 7 % Myelozyten, 6 % Stabkernigen, 11 % Segmentkernigen, 10 % Eosinophilen, 3 % Basophilen, 57 % Lymphozyten und 4 % Monozyten. 3 600 Erythroblasten pro μ l; Thrombozyten 35 000 - 80 000/ μ l.
- Serum: Ca 6,4 - 8,3 mg% (Normbereich 8,5 - 10,5), P 1,7 - 2,8 mg% (4 - 7), AP bis zu 4.790 U/l (85 - 180); PTH und Vitamin D-Metabolite nicht gemessen.
- Massive Aminoazidurie

Die Rachitis-Therapie bestand aus 50 000 - 75 000 I.E. D₃ intramuskulär pro Tag über mehrere Monate und zusätzliche Gaben von Kalzium und Phosphat. Trotzdem verschlechterte sich die Rachitis immer mehr.

Die Infekte wurden mit verschiedenen Antibiotika therapiert; die Pneumonie rezidierte jedoch mehrfach. Die ausgeprägte Kyphoskoliose und die pathologische Biegsamkeit der Rippen führten zu schlechter Belüftung der Lunge und bereiteten den Boden für eine chronische, karnifizierte Pneumonie des rechten Mittel- und Unterlappens.

Am 18. August 1980 verstarb S. M. im Tawam Hospital im Alter von 22 Monaten, bevor über den Antrag auf Überweisung an ein europäisches Kinderzentrum entschieden werden konnte. Als Todesursache wurde respiratorische Insuffizienz angegeben. Abschlußdiagnosen waren therapierefraktäre Rachitis schwersten Grades, Myelofibrose und Verdacht auf Störung des Immunsystems.

Der jüngste Sohn der Familie wurde im Oktober 1985 geboren und war in den ersten Lebenswochen klinisch unauffällig. Serumspiegel von Ca, P, AP, PTH und 1,25 (OH)-D₃ waren in der vierten Lebenswoche im Normbereich.

4.4 Befunde vor Therapie

Die Werte des Patienten werden in zwei Abschnitte unterteilt: I umfaßt den Zeitraum ohne jegliche Therapie. Er war aus begreiflichen Gründen sehr kurz und dauerte vom 14. - 22. Juni 1984. Der Abschnitt II umfaßt die Zeit vom 23. Juni bis 16. Juli 1984. In dieser Phase erhielt der Patient zwar orale Calcium- und Phosphatgaben und relativ niedrig dosiert Vitamin D₃, die eigentliche Therapie mit hochdosierten Vitamin D-Metaboliten und intravenösem Kalzium begann jedoch erst anschließend. Für die einzelnen Werte erfolgen im Rahmen der jeweiligen Abschnitte der Diskussion Überlegungen, wie groß die Wahrscheinlichkeit der Beeinflussung durch diese Therapie einzuschätzen ist.

4.4.1 Serum- und Urinchemie

Die Serumwerte sind in Tabelle 12 zusammengefaßt.

Isoenzyme der alkalischen Phosphatase, bestimmt von Prof. Kruse, Universitätskinderklinik Würzburg

1) Gesamt-AP	3461 U/l (-600)
2) Durch L-Phenylalanin hemmbarer Anteil	317 U/l (~ 80)
3) Nicht durch L-PA hemmbarer Anteil	3144 U/l (-470)
4) davon hitzeinaktivierbar	2853 U/l (-414)
5) nicht hitzeinaktivierbar	291 U/l (~ 89)
Quotient aus 5 und 3 (Q-Wert)	0,09 (0,12 - 0,34)

Je kleiner der Q-Wert, desto mehr AP stammt aus dem Knochen. Damit ist nachgewiesen, daß der Großteil der AP unseres Patienten aus dem Knochen stammt.

Das Säulenchromatogramm der Plasmaamino-säuren war bei mehrfachen Kontrollen unauffällig. Im Fluoreszenz-Spot-Test nach Beutler war Aktivität der Galaktose-1-Phosphat-Uridyltransferase nachweisbar.

Im Morgenurin vom 09.07.84 wurden zusätzlich folgende Werte gemessen (Normalwerte in Klammern):

Kreatinin	40 mg/dl	
cAMP	13,6 nmol//dl GF	(1,6 - 4,8)
Hydroxyprolin	1988 µg/mgCr	(99 - 335)
Kalzium	85 µg/mgCr	(23 - 594)
TRP	47 %	(82 %)
TmPO ₄ /GFR	0,4 mmol/l	(1,3 - 2,6)

Die säulenchromatische Analyse der Urinaminosäuren ergab folgende Werte (Benennung mmol/g Kreatinin, Normalbereich in Klammern):

Taurin	20,47	(- 0,7)
Threonin	2,94	(- 0,976)
Serin	5,20	(- 1,57)
Glutamin	9,54	(zusammen
Gutaminsäure	3,20	bis 1,63)
Glycin	1,69	(- 4,60)
Alanin	3,19	(- 1,50)
Tyrosin	3,91	(- 0,54)
Lysin	5,04	(- 1,08)
Histidin	13,58	(- 3,01)

Ein weiterer kleiner, ninhydrinpositiver Fleck war nicht einzuordnen. Die Brand'sche Probe war positiv.

Tabelle 12: Serumwerte des Patienten vor Therapie

Die Werte vom 14. - 22. Juni 1984 sind in Spalte I, die vom 23. Juni bis 16. Juli 1984 in Spalte II zusammengefaßt. Diese Einteilung ist im Text erläutert. Mehr als 2 Bestimmungen eines Parameters sind als Mittelwert +/- SEM angegeben, die Zahl der Bestimmungen folgt in Klammern. Oc und PTH wurden von Prof. Kruse, Universitätskinderklinik Würzburg gemessen, 25(OH)D und 1,25(OH)D von Prof. Schmidt-Gayk, Universität Heidelberg, 24,25(OH)D von Frau Dr. Balsan, Hospital des Enfants Malades, Paris; Ferritin, Vitamin A und saure Phosphatase vom Institut für klinische Chemie der Universität München im Klinikum Großhadern, Vitamin B₁₂ und Folsäure im Schwabinger Krankenhaus München und die Schilddrüsenwerte in der Medizinischen Klinik Innenstadt der Universität München.

	I	II	Normalbereich
Kalzium	2,14 +/- 0,05 (3)	2,04 +/- 0,02 (5)	2,20 - 2,80 mmol/l
Ionisiertes Kalzium		1,22 (1)	1,10 - 1,30 mmol/l
Phosphat	0,8 +/- 0,1 (3)	1,3 +/- 0,4 (4)	1,30 - 2,30 mmol/l
Alkalische Phosphatase	3093 +/- 855 (3)	3326 +/- 451 (4)	110 - 600 U/l
Osteokalzin		2,8 (1)	7,7 - 15,3 ng/ml
Parathormon		2,88 (1)	0,30 - 0,90 ng/ml
25(OH)D	529 (1)		20 - 120 ng/ml
1,25(OH)D	320 (1)		20 - 60 pg/ml
24,25(OH)D	0,3 (1)		1 - 3 ng/ml
Eisen	35 (1)	129 +/- 23 (3)	60 - 140 µg/dl
Eisenbindungskapazität	402 (1)	438 +/- 4 (3)	250 - 420 µg/dl
Ferritin		28,7 (1)	40 - 3000 ng/ml
Magnesium		0,7 (1)	0,65 - 1,05 mmol/l
Kupfer	189 (1)	213 (1)	70 - 130 µg/dl
Coeruloplasmin		48,6 (1)	20 - 48 mg/dl

I		II	Normalbereich
Thrombelastogramm			
Reaktionszeit r	11'30"	(1)	- 12 min
Thrombusbildungszeit	8'	(1)	- 6 min
max. Thr'elastizität	67	(1)	90 - 150
Maximalamplitude	40	(1)	47 - 60 mm
Quickindex	>100	(1)	70 - 100 %
PTT	36,8	(1)	- 60 sec
Thrombinzeit	14,5	(1)	- 11 sec
Fibrinogen	360	(1)	200 - 400 mg/dl
Natrium	138 / 139	(2)	135 - 145 mmol/l
Kalium	3,9 / 4,2	(2)	3,5 - 5,5 mmol/l
Chlorid	107	(2)	95 - 110 mmol/l
Osmolarität	277	(1)	270 - 290 mosm/l
Kreatinin	0,4	(1)	- 1,2 mg/dl
Harnsäure			- 6 mg/dl
Harnstoff-N			- 20 mg/dl
Vitamin A	11	(1)	20 - 80 µg/dl
B ₆			4,7 - 35,5 ng/ml
B ₁₂			200 - 555 ng/l
C			0,2 - 2,0 mg/dl
Folsäure			2,0 - 13,0 µg/l
Gesamteiweiß	6,2	(1)	6 - 8 g/dl
Albumin	60,2	(1)	60 - 70 %
alpha 1	3,9	(1)	3 - 5 %
alpha 2	11,1	(1)	5 - 9 %
beta	11,8	(1)	9 - 12 %
gamma	12,6	(1)	13 - 17 %

Fortsetzung Tabelle 12

	I	II	Normalbereich
Immunglobulin G	903	(1)	400 - 1300 mg/dl
A	162	(1)	20 - 130 mg/dl
M	122	(1)	50 - 200 mg/dl
Bilirubin gesamt	0,6 / 0,8	(2)	- 1,2 mg/dl
direkt	0,05	(1)	- 0,3 mg/dl
GOT	20	(1)	- 22 U/l
GPT	11	(1)	- 24 U/l
CPK	6		10 - 95 U/l
Blutzucker nüchtern			60 - 100 mg/dl
Gesamt T4 RIA		68	4,5 - 10,0 µg/dl
TBG RIA		5,7	1,5 - 2,8 mg/dl
T4/TBG Quotient		1,7	1,8 - 5,7
Gesamt T3 RIA		3,4	80 - 180 ng/dl
TSH basal		127	- 2,2 µgU/ml
saure Phosphatase		3,4	3,0 - 13,0 U/l
Prostataphosphatase		15,1	- 4,0 U/l
Laktat	10,1	1,0	5 - 24 mg/dl

Tabelle 13: 24-Stunden-Urine vor Therapie

Die Werte vom 14. - 22. Juni 1984 sind in Spalte I, die vom 23. Juni bis 16. Juli 1984 in Spalte II zusammengefaßt. Diese Einteilung ist im Text erläutert.

	I	II	Normalbereich
Kreatinin	8,60	7,40 / 9,20	6 - 22 mg/kg/d
Kalzium	31 / 47	29 / 21	28 - 180 µmol/kg/d
Phosphat	0,30 / 0,44	1,48 / 1,43	0,37 - 1,1 mmol/kg/d
Natrium	1,82	2,76 / 3,08	0,50 - 4,9 mmol/kg/d
Kalium	1,37	1,44 / 1,96	1,00 - 4,2 mmol/kg/d
Chlorid	2,00	1,40	3,00 - 7,2 mmol/kg/d
Eiweiß	56 / 102		- 150 mg/d

4.4.2 Hämatologie

Die Tabelle 14 zeigt die hämatologischen Parameter vor Therapie. Die Erythrozyten zeigten Mikro-, Aniso-, Poikilozytose-, Poly-, Hypochromasie, zum Teil Targetzellen, Cabot'sche Ringe und basophile Tüpfelung. Malaria wurde durch einen sogenannten Dicken Tropfen ausgeschlossen.

Hämoglobin

Die Färbung auf Heinz'sche Innenkörper war negativ, der Hitzedenaturierungstest mit <1 % unauffällig. Die Hb-Elektrophorese ergab für HbF 0,3 % (normal <1 %) und für HbA₂ 2,1 % (1,5 - 3 %). Die Untersuchung des Hämoglobins wurde nach einigen Monaten kontrolliert und zeigte dabei wiederum Normalbefunde.

Knochenmarksbiopsie

Die Nadelbiopsie wurde von einem erfahrenen Untersucher am Beckenkamm vorgenommen. Die zwei gewonnenen Gewebszylinder bestanden überwiegend aus Knorpel. Wegen des Fehlens von Knochen und Markräumen war keine Beurteilung möglich. Daraufhin wurde die Untersuchung wiederholt. Wiederum bestand das bioptische Material aus Knorpel. Ein winziges Bröckel zeigte zusammengeschobene Knochenbälkchen mit Entnahmeartefakten. Die Knochenstruktur war nicht zu beurteilen. Es fanden sich wiederum keine hämatopoetischen Zellen in den Präparaten.

4.4.3 Immunologie

Serologische Befunde

Anti-Hepatitis A-Virus	negativ
Hepatitis B surface-Antigen	negativ
Anti-Hepatitis B surface	negativ
Anti-Hepatitis B core	negativ
Epstein-Barr-Virus	negativ
Cytomegalievirus	stark positiv, IgM negativ
Herpes simplex	negativ
Röteln	negativ
Leishmaniose (Kala Azar)	negativ
Lues	negativ

Es lag also keine akute Infektion mit obengenannten Erregern vor; eine Cytomegalieerkrankung schien länger zurückzuliegen.

4.4.4 Stuhl

Zum Ausschluß von Darminfektionen wurde der Stuhl bakteriologisch, virologisch und auf Wurmeier untersucht. Bei der Aufnahme war die übliche Stuhlflora vorhanden. Rotaviren konnten nicht nachgewiesen werden. Es wurde eine große Zahl von Lamblienzysten gefunden.

4.4.5 Röntgen und Sonographie

Röntgen

Es wurde eine komplette Skelettübersicht durchgeführt. Alle Knochen waren weitgehend entkalkt. Sie zeigten ein grobes Innenmuster, die Corticalis war dünn, zum Teil lamellär aufgebaut. Der Abstand zwischen Meta- und Epiphysen schien etwas verbreitert, sicheres Osteoid ließ sich jedoch nicht abgrenzen. Die Metaphysen waren meißelartig verbreitert. Die Wirbelkörperhöhe der LWS war reduziert, die BWS kaum abgrenzbar, es bestand auch Verdacht auf Skoliose.

Die Knochenstrukturen des Handskeletts waren nur schemenhaft zu erkennen (siehe Anhang Abb. 20a). Die distale Radiusepiphyse, regelmäßig ab dem 18. Lebensmonat zu erwarten, und Kapitatum und Hamatum, regelmäßig ab dem 9. Monat zu erwarten, waren nicht sichtbar. Metacarpalia, Ulnae, Fibulae beiderseits und der rechte Radius zeigten zahlreiche Frakturen. An den Rippen waren weitere Brüche nicht auszuschließen. Der Schädel war etwas geringergradig entkalkt als das übrige Skelett, die Odontogenese schien nicht gestört.

Die Thoraxaufnahme zeigte das typische Muster der "Rachitislunge", das sich schwer von einer bronchopneumonischen Herdbildung abgrenzen läßt.

Sonographie des Abdomens

Leber: Kontur kaudal keilförmig, Binnenstruktur unauffällig

Größe in der rechten vorderen Axillarlinie	9 cm
in der rechten Medioklavikularlinie	7 cm
in der Sternallinie	4 cm
in der linken Medioklavikularlinie	3 cm

Milz: Kontur leicht abgerundet, Binnenechos etwas verdichtet, Größe 8 x 4,5 x 6 cm

Nieren: Deutliche fetale Renkulierung und prominente Markpyramiden, Größe im Normbereich

Pankreas, Gallenblase und -wege unauffällig.

4.4.6 Zähne, Haare und Augen

Zahnstatus

0 1 0 1 1		1 1 0 1 0
0 1 0 1 1		1 1 0 1 0

Bei einem Lebensalter von 20 Monaten sind in der Regel zusätzlich die vier Eckzähne zu erwarten. Die Zahnentwicklung des Patienten war um etwa 6 Monate verzögert.

Die medialen unteren Schneidezähne waren nur unvollständig durchgebrochen, die medialen oberen Schneidezähne wiesen Schmelzhypoplasien auf.

Hautärztlicher Befund

Der Haarwuchs war unauffällig. Eine Epilation, die frontal vorgenommen wurde, ergab folgenden Haarwurzelstatus: Anagenhaare 94 %, Telogenhaare 6 %, ein Befund im Normalbereich. Auch polarisations- und rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen waren o. B.

Augenärztlicher Befund

Es fand sich kein Hinweis auf pathologische Veränderungen, insbesondere kein Hinweis auf eine Zystinose.

4.5 Therapie

4.5.1 Vitamine und Mineralien

Die Rachitistherapie mit Vitamin D und seinen Metaboliten, oralem und intravenösem Kalzium und oralem Phosphat, ist in Tabelle 15 zusammengefaßt und im Anhang (Abb. 9) graphisch dargestellt).

Die Kalziuminfusion wurde mit 10 %iger Lösung durchgeführt. 1 ml dieser Lösung (Drobena GmbH, Berlin) enthält 94 mg Kalziumglukonat $\cdot$ 1 H₂O und 5 mg Kalzium-D-saccharat $\cdot$ 4 H₂O entsprechend 9,22 mg elementares Kalzium. Die Kalziumlösung wurde je nach Flüssigkeitsbedarf des Patienten mit Elektrolytlösungen verdünnt, mit ca. 100 I.E. Heparin (Vetren) pro kg Körpergewicht versetzt und mit einem Perfusor langsam infundiert. Die gleiche 10 %ige Lösung wurde im Juni/Juli 1984 und von November 1984 bis April 1985 oral gegeben.

Orales Kalzium wurde auch in der Form von Brausetabletten (Sandoz AG, Nürnberg) verabreicht.

Die Phosphatlösung, die über etwa drei Monate per os eingenommen wurde, hatte folgende Rezeptur:

Primäres Natriumhydrogenphosphat (NaH ₂ PO ₄)	3,0 g
Sekundäres Natriumhydrogenphosphat (Na ₂ HPO ₄)	30,3 g
Aqua destillata ad	500 ml
1 ml dieser Lösung enthält 14,76 mg elementaren Phosphor.	

1 α (OH)D₃ wurde in Kapseln zu 1 μ g verabreicht. 1,25(OH)D wurde uns dankenswerterweise von Hoffmann-LaRoche als Lösung (3 μ g/ml) zur Verfügung gestellt. Mit dieser Lösung konnte eine orale Therapie mit Tagesdosen bis 99 μ g durchgeführt werden, die bei dem Alter des Patienten mit handelsüblichen Kapseln zu 1 μ g undurchführbar gewesen wäre. Vitamin D₃ wurde in Form von Kapseln bzw. Tabletten verabreicht.

Vom 7. - 31. Juli 1984 erhielt der Patient täglich wegen seines erniedrigten Serumspiegels 40 mg Vitamin B₆ p.o.; anschließend wurde die Dosis für zwei Monate auf 2 x 40 mg pro Woche reduziert. Danach wurde eine fortlaufende B₆-Substitution mit einem Multivitaminpräparat durchgeführt.

Vom 20. August 1984 bis über die Entlassung hinaus nahm der Patient ein Multivitaminpräparat ein. Die Dosierung wurde dem zunehmenden Körpergewicht entsprechend von 15 auf 30 Tropfen pro Tag gesteigert. Bei dieser Dosierung erhielt der Patient neben anderen Wirksubstanzen 1,7 bis 3,4 mg B₆ und 430 bis 860 I.E. D₃ pro Tag.

Tabelle 15: Übersicht über die Therapie des Kalzium-Phosphat-Stoffwechsels

Angabegeben ist jeweils das Datum des Therapiebeginns bzw. -wechsels. = bedeutet unveränderte Fortsetzung der Therapie, Ø das Absetzen des Präparates. In der Regel wurden die Medikamente in drei Tagesdosen verabreicht. Bei gleichzeitiger oraler Kalzium- und Phosphat-Therapie wurden die beiden Substanzen abwechselnd im Abstand von einigen Stunden gegeben, um die Bildung unresorbierbarer Komplexe zu verhindern. Am 11.11.85 wurde der Patient entlassen; die letztgenannte Therapie wird bis auf weiteres durchgeführt.

22.6.84		29.6.	7.7.	18.7.	31.7.	7.8.	13.8.	17.8.	27.8	29.8.	3.9.	6.9.	10.9.
Ca Lösung p.o.	(g Ca/d)	0,04-0,11	=	0,18	Ø	2,0	=	3,0	=	=	=	=	=
Ca Brause	(g Ca/d)			20000	Ø	4		12					
D3	(IE/d)	2000-6000	=										
Ca (OH) D3	(µg/d)				8								
1,25 (OH) D	(µg/d)							12		16	25	36	45
P Lösung	(g P/d)		0,44	=		0,22	=	=	=	=	=	=	57
													66
													0,44
18.9.84		24.9.	27.9.	3.10.	11.10.	19.10.	31.10.	4.11.	19.11.	28.11.	7.12.	25.12.	13.1.85
Ca Lösung p.o.													
Ca Brause	5,00	Ø	0,55-0,65	0,74	=	2,0	3,0	0,37	=	0,46	0,74	1,11	1,48
Ca iv (g Ca/d)						=	=	Ø		0,60	0,33	0,17	0,11
D3													
1,25 (OH) D	99	=	=	4,8 Mio	10,2 Mio	=	=						
P Lösung	0,44	=		Ø									
17.1.		30.1.	16.2.	26.2.	25.3.	1.4.	3.4.	6.4.	29.5.	5.6.	19.7.	27.7.	10.8.*
Ca Lösung p.o.	=	1,38	1,20	1,02	=	0,83	0,46	Ø					
Ca Brause						1,0	=	=		1,5	2,0	Ø	2,0
Ca iv	Ø												Ø*
D3				200.000					400.000				
													200.000

* Zusätzlich wurden intermittierende Infusionen von 0,92 g Kalzium innerhalb 12 Stunden durchgeführt: Am 10.9., 10.10. und 1.11.1985 in München und am 3.12.1985, 7.1., 4.2., 12.3., 7.4., 6.5. und 4.6.1986 in den Arabischen Emiraten.

Aufgrund Eisenmangel und hypochromer Anämie wurde eine Eisensubstitution durchgeführt. Die Tagesdosen sind in Tabelle 16 ersichtlich.

Tabelle 16: Eisensubstitution

Angegeben ist die Tagesdosis in mg elementarem Eisen, die auf drei Einzelgaben verteilt wurde. Die jeweiligen Dosen wurden vom genannten Datum bis zum folgenden verabreicht. Die letzte Dosis wurde über die Entlassung hinaus rezeptiert.

26.06.84	33 mg Fe ⁺⁺
06.12.84	40 mg
19.12.84	47 mg
02.01.85	66 mg
19.01.85	73 mg
11.04.85	59 mg
29.04.85	abgesetzt
08.08.85	59 mg

4.5.2 Ernährung

A. M. wies mit 6 460 g ein Körpergewicht weit unter der dritten Perzentile auf. Wegen Appetitlosigkeit und erheblicher allgemeiner Schwäche war der Junge nicht in der Lage, ausreichend Nahrung zu sich zu nehmen. Deswegen wurde er etwa eine Woche nach stationärer Aufnahme mit einer Magensonde versorgt. Die Magensonde wurde etwa 10 Monate, bis April 1985, zur Nahrungsaufnahme verwendet. So konnten ausreichende Mengen von 600 - 800 g pro Tag zugeführt werden. Der Großteil wurde als Folgemilch gegeben, ergänzt durch Gemüsebrei, Obstsaften und hochkalorische Zusätze wie Maltodextrin und Sondennahrung.

In der Folge erhielt der Patient normale Kost nach Wunsch.

4.5.3 Physikalische Therapie

Ab Ende Juni 1985 wurden dem Patienten verschiedene orthopädische Hilfe-Apparate angepaßt: Für die Bettruhe wurde eine Liegeschale entworfen, die der Kyphose und Skoliose entgegenwirkte. Außerhalb des Bettes trug A. M. ein Korsett von der Schulter bis knapp oberhalb der Hüfte, das an den Stellen des skoliotischen Rippenbuckels besonders gepolsterte Widerläger aufwies. Für das Gehen und Stehen wurde dem Kind eine Apparatur angepaßt, die das Körpergewicht direkt auf den Beckengürtel übertragen und so die Beine vor weiterer variformer Deformierung bewahren sollte. Die Apparatur ähnelte einem beidseitigen Thomassplint, der bei der Perthes'schen Erkrankung das betroffene Hüftgelenk entlastet. Der Fuß berührt nur in Plantarflexiion mit den Ballen die Bodenplatte des sogenannten Walkschuhs, das Gewicht wird vom Schuh über Metallstangen, die auf Kniehöhe mit Gelenken versehen sind, auf das Tuber ischiadicum übertragen.

Die orthopädischen Apparaturen wurden jeweils dem Größenzuwachs entsprechend angepaßt bzw. neu gestaltet.

Ab Mitte Januar 1985 hatte sich der Allgemeinzustand des Patienten soweit gebessert, daß der motorische Rückstand und die Muskelkontrakturen am kyphotischen Thorax mit Gymnastik und Massagen behandelt werden konnten. Die Krankengymnastik wurde täglich durchgeführt. Ab Mitte Februar wurde zusätzlich eine Beschäftigungstherapeutin eingesetzt. Zweimal in der Woche gab sie dem intelligenten und sehr an seiner Umwelt interessierten Jungen Anregungen, seine Muskelkraft und Geschicklichkeit spielerisch zu verbessern.

4.5.4 Antiinfektiöse Therapie

Bei Infekten der oberen Luftwege erhielt der Patient Cephalosporin- und Penicillinsaft.

Die intravenöse Antibiotikatherapie bei vier Septikämien

wurde nach Antibiotogramm mit einer Kombination von Cefotaxim und Tobramycin durchgeführt.

Darüber hinaus wurden bei hohem Fieber Antipyretika und zur Prophylaxe bei antibiotischer Therapie Antimykotika oral verabreicht. Die Lambliasis wurde mit Ornidazol-Tabletten behandelt.

Verschiedene Hautinfektionen (follikuläre Dermatitis, Soor und vereinzelt auftretende Pusteln) wurden mit entsprechenden externen Dermatika behandelt.

Einmal bestand bei dem Patienten Verdacht auf Varizellenexposition. Prophylaktisch erhielt der Patient eine intramuskuläre Gabe einer humanen Immunglobulinpräparation gegen das Virus.

4.5.5 Kariesprophylaxe

Wegen des erhöhten Kariesrisikos mußten - neben besonders sorgfältiger Zahnpflege - die Schmelzhypoplasien wöchentlich fluoridiert werden. Dies geschah ab August 1985 mit Elmex Gelee^(R) zunächst mittels einer Wachsschablone für die oberen Schneidezähne, einige Wochen später war dann dank der verbesserten Mitarbeit des Kindes eine Fluoridierung aller Zähne mittels einer Silikonschablone möglich. Ab Oktober wurden zusätzlich täglich zwei Fluoridtabletten (entsprechend 0,50 mg Fluorid und 2 000 I.E. D₃) pro Tag zur Unterstützung der Fluoridierung verordnet. Auf diese Weise konnte eine Karies wirksam verhindert werden.

4.5.6 Sonstige Maßnahmen

Da der Patient wegen der rachitischen Muskelhypotonie und der pathologisch verstärkten Biegsamkeit der Rippen Schwierigkeiten hatte, Bronchialsekret ausreichend abzu husten, erhielt er regelmäßig Expektorantien.

A. M. neigte gelegentlich zu Obstipation, wahrscheinlich durch eine Schwächung der Bauchpresse aufgrund der ra-

chitischen Muskelhypotonie ("Froschbauch") bedingt. Neben schlackenreicher Kost wurden gelegentlich Klistiere verwendet. Phasenweise wurde auch Obstinol^(R) verabreicht. Bei langfristiger Gabe dieses Paraffin und Phenolphtalein enthaltenden Präparates wurde zum Teil eine verminderte Resorption fettlöslicher Vitamine beobachtet. Das extreme Ansteigen der Kalziferolserumspiegel unter Therapie zeigte, daß diese unerwünschte Nebenwirkung bei unserem Patienten nicht auftrat.

4.6 Verlauf

Der Verlauf von Kalzium, Phosphat, alkalischer Phosphatase, Osteokalzin, Eisen, Eisenbindungskapazität und Ferritin im Serum, Kalzium, Hydroxyprolin und Zykloadenosinmonophosphat im Urin, tubulärer Phosphatrückresorption und Transportmaximum für Phosphat und der hämatologischen Parameter in zeitlichem Zusammenhang mit der Therapie ist im Anhang in den Abbildungen 10 bis 17 dargestellt. Im folgenden sind die Laborwerte des Patienten tabellarisch zusammengefaßt. Sie sind sämtlich in gleicher Weise chronologisch unterteilt, damit auftretende Veränderungen leicht mit den therapeutischen Maßnahmen korreliert werden können.

Den dreizehn Monate langen Zeitraum von der stationären Aufnahme im Juni 1984 bis zum Beginn der intermittierenden Kalziuminfusionen im Juli 1985 wurde in elf Abschnitte (I - XI) unterteilt.

Abschnitt I umfaßt den Zeitraum ohne jegliche Therapie. Abschnitt II wurde mit niedrigdosierter Therapie begonnen. Der Patient erhielt täglich 40 - 180 mg elementares Kalzium als oral verabreichte 10 %iger Lösung, 440 mg Phosphat und 2 000 bis 20 000 I.E. D_3 . Die Daten von Zeile I und II sind identisch mit den von Spalte I und II in der Tabelle der Aufnahmebefunde.

Die Abschnitte III und IV zeigen die Werte während der hochdosierten Therapie mit den 1-hydroxylierten Metaboliten Alfacalcidol und Calcitriol. Dieser Zeitraum wurde in zwei hinsichtlich Dauer und Anzahl der Laborwerte gleichgroße Abschnitte unterteilt, um sichtbar zu machen, ob und inwieweit während dieser Therapie eine Änderung der Werte eintrat. In Abschnitt III erhielt der Patient 4 bis 16 μg $1\alpha(OH)D_3$ bzw. $1,25(OH)D$ und 2 bis 3 g elementares Kalzium als Brause. Die Phosphatdosis wurde auf 220 mg halbiert. In Abschnitt IV wird $1,25(OH)D$ auf 99 μg , die Kalziumbrause auf 5 g und die Phosphatlösung wieder auf 440 mg gesteigert.

Es folgte die kontinuierliche Kalziuminfusion. Abschnitt V ist eine Woche lang. Er soll die Veränderungen zeigen, die sich kurzfristig in den ersten Tagen der Infusionstherapie ergeben haben. In diesem Zeitraum wurde die infundierte Kalziummenge von anfänglich 550 mg auf 740 mg elementares Kalzium pro 24 Stunden gesteigert, die orale Kalzium- und Phosphatsubstitution abgesetzt. Die 99 μg 1,25(OH)D wurden weiter verabreicht. Die übrige Zeit der iv-Therapie ist in drei Abschnitte von 4 bis 6 Wochen Dauer unterteilt:

- In VI wurden 740 m CA infundiert und 4,8 bis 10,2 Millionen I.E. D₃ verabreicht.
- In VII wurde die Infusionsmenge von 740 auf 600 mg Ca reduziert, während gleichzeitig oral bis zu 460 mg Ca als 10 %ige Lösung verabreicht wurde. In der Mitte dieser Phase wurde die hochdosierte Vitamin D-Therapie abgesetzt.
- In Abschnitt VIII wurde die Kalziuminfusion von 330 mg ausschleichend beendet und im gleichen Maß die orale Kalziumsubstitution von 740 auf 1 480 mg erhöht. Es erfolgte keine Vitamin D-Gabe.

Die Unterteilung der Laborwerte während der Infusionstherapie in die Abschnitte V bis VIII erfolgt ebenfalls, um eine differenziertere Sicht dieser Zeit zu ermöglichen.

Auch die Zeit bis zum Beginn der intermittierenden Infusionstherapie wird dreigeteilt, damit der Verlauf der Laborparameter nach dem Ende der kontinuierlichen Infusion und der hochdosierten Vitamin D-Therapie einer kritischen Wertung unterzogen werden kann. Die einzelnen Abschnitte umfassen 7 bis 10 Wochen.

In IX wurde ausschließlich zwischen 1 380 und 1 020 mg Kalzium als 10 %ige Lösung verabreicht.

In X wurden 200 000 I.E. D_3 verabreicht und die orale Kalziumgabe auf 1 g Brause umgestellt.

Im Abschnitt XI wird Vitamin auf 400 000 I.E. und die Kalziumbrause bis auf 2 g gesteigert.

In den Abschnitten XII und XIII wurden einmal monatlich zwölfstündige Infusionen von 920 mg elementarem Kalzium durchgeführt. Täglich nahm der Patient 200 000 bis 400 000 I.E. D_3 und 0,8 bis 2 g Kalzium ein. Den Abschnitt XII verbrachte der Patient stationär in München, den Abschnitt XIII in seinem Elternhaus in den Vereinigten Emiraten.

Eine Übersicht über die Therapieabschnitte, denen im folgenden die Laborwerte zugeordnet werden, zeigt Tabelle 17.

In den Abschnitten XII und XIII schien eine Zusammenfassung der Einzelwerte wie in den vorhergehenden Abschnitten nicht sinnvoll. Durch die intermittierenden Infusionen wurde hier eine Periodik geschaffen, die eine Zusammenfassung der Daten kurz nach den Infusionen und gegen Ende des infusionsfreien Intervalls, also kurz vor der nächsten Infusion nahelegen. In der Abbildung 2 ist graphisch dargestellt, wie die Werte von XII und XIII geordnet wurden.

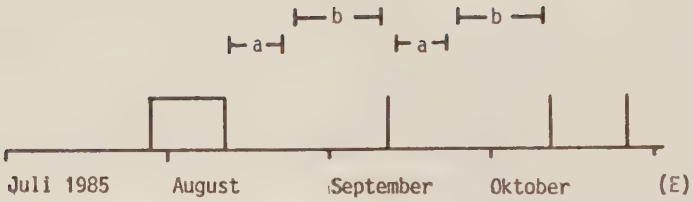
Im folgenden sind die Befunde des Patienten von zwei Jahren so kurz und übersichtlich wie möglich - meist tabellarisch - zusammengestellt. Sie werden in der Diskussion ausführlich erläutert und kommentiert.

Tabelle 17: Chronologische Einteilung des Verlaufs und Zuordnung der Rachitistherapie zu den einzelnen Abschnitten

Kalziferol steht für D₃ und seine Metabolite. Angegeben sind Tagesdosen in Gramm elementarem Kalzium bzw. Phosphat.

		Kalziferol	Ca iv	Ca oral	P oral
<u>Diagnostik (06./07.84)</u>					
I	14.06. - 22.06.84	Ø	Ø	Ø	Ø
II	23.06. - 18.07.84	niedrig	Ø	0,1 g	0,4 g
<u>Hochdosierte Kalziferoltherapie (07. - 09.84)</u>					
III	19.07. - 22.08.84	hoch	Ø	2,0-3,0 g	0,2 g
IV	23.08. - 24.09.84	sehr hoch	Ø	5,0 g	0,4 g
<u>Kontinuierliche Kalziuminfusion (09.84 - 01.85)</u>					
V	25.09. - 30.09.84	sehr hoch	Beginn	Ø	Ø
VI	01.10. - 29.10.84	sehr hoch	0,74 g	Ø	Ø
VII	30.10. - 06.12.84	Ø	0,60 g	Ø	Ø
VIII	07.12. - 22.01.85	Ø	Ende	0,4-1,5 g	Ø
<u>Remissionstest (01.-07.85)</u>					
IX	23.01. - 11.03.85	Ø	Ø	1,0-1,3 g	Ø
X	12.03. - 12.05.85	hoch	Ø	1,0 g	Ø
XI	13.05. - 26.07.85	hoch	Ø	2,0 g	Ø
<u>Intermittierende Kalziuminfusionen (07.85-06.86)</u>					
XII	27.07. - 11.11.85	hoch	Inter-vall	2,0 g	Ø
XIII	12.11. - 05.06.86	hoch	Inter-vall	0,8 g	Ø

XII



XIII

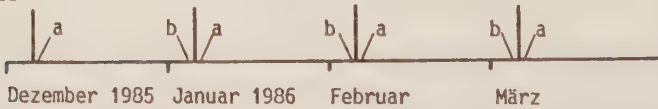


Abb. 2 - Zusammenfassung der Laborwerte während der intermittierenden Kalziuminfusionen.
Eine 14tägige und die 12stündigen Infusionen sind auf den Zeitachsen aufgetragen. Die Zuordnung der Werte zu den Unterpunkten XII a/b und XIII a/b ist markiert. Abschnitt XII endet mit der Entlassung (E), das Schema XIII wird in den Emiraten fortgeführt. Die jüngsten verfügbaren Daten stammen von Juni 1986.

4.6.1 Serum- und Urinchemie

Tabelle 18 und 19 fassen den Verlauf des Mineralstoffwechsels und Knochenumsatzes zusammen. Tabelle 20 zeigt die Plasmaspiegel der Vitamin D-Metabolite im Verlauf.

Kalzitonin

Am 09. September 1985 ließen wir im Labor der Medizinischen Klinik Innenstadt der Universität München Kalzitonin bestimmen. Zum Zeitpunkt der Abnahme wurden intermittierende Kalziuminfusionen durchgeführt. Die letzte Infusion lag 4 Wochen zurück. Der Patient erhielt täglich 400 000 I.E. D₃ und 2 g Kalziumbrause. Der Kalzitoninspiegel lag unter der Nachweisgrenze von 0,1 µg/l bei einem Normbereich bis 0,3 µg/l.

Ionisiertes Kalzium und Magnesium im Serum

Das ionisierte Kalzium wurde von Prof. Dr. K. Kruse, Universitätskinderklinik Würzburg, gemessen. Seine Konzentration im Serum des Patienten zeigte zum Gesamtkalzium gleichsinnige, wenn auch geringer ausgeprägte Schwankungen. Die Werte lagen meist im Normbereich von 1,2 bis 1,3 mmol/l; nur kurz vor Beginn der Kalziuminfusion sanken sie bis auf 0,78 mmol/l. Während der Infusion traten Spitzenwerte bis 1,88 mmol/l auf.

Der Magnesiumserumspiegel lag bei mehrfachen Kontrollen an der unteren Normgrenze oder darunter: Es fanden sich Werte von 0,5 bis 0,7 mmol/l bei einem Normalbereich von 0,65 bis 1,05 mmol/l.

Die Tabellen 21a und b fassen den Verlauf der Laborparameter im Urin zusammen.

Tabelle 18: Verlauf der Mineralstoffwechsel- und Knochenumsatzparameter Kalzium, Phosphat, alkalische Phosphatase und Parathormon von Juni 84 (stationäre Aufnahme) bis Juli 85

Es sind jeweils der Mittelwert +/- die Standardabweichung der Mittelwerte angegeben. In Klammer folgt die Anzahl der Meßwerte (n). Bei n=2 sind die beiden Meßwerte durch Strichpunkt getrennt einzeln angegeben. Die Begründung und Erläuterung der Einteilung der Zeitabschnitte erfolgt ausführlich im Text. PTH wurde von Prof. Dr. Kruse Universitätskinderklinik Würzburg, gemessen. iv + 2 - 12d bedeutet Werte 2 - 12 Tage nach der letzten Infusion.

Zeitraum	Kalzium (mmol/l)	Phosphat (mmol/l)	Alkalische Phosphatase (U/l)	Parathormon (ng/ml)
I 14.06.-22.06.84	2,11 +/- 0,05 (4)	0,8 +/- 0,1 (3)	3093 +/- 855 (3)	
II 23.06.-18.07.	2,05 +/- 0,03 (4)	1,3 +/- 0,4 (4)	3326 +/- 451 (4)	2,88 (1)
III 19.07.-22.08.	1,97 +/- 0,04 (9)	0,8 +/- 0,0 (8)	3130 +/- 233 (9)	3,85 (1)
IV 23.08.-24.09.	1,90 +/- 0,06 (9)	0,8 +/- 0,1 (8)	3167 +/- 345 (9)	3,28 +/- 0,21 (3)
V 25.09.-30.09.	2,15 +/- 0,04 (4)	0,9 +/- 0,1 (3)	2382 +/- 151 (4)	2,72 (1)
VI 12.10.-29.10.	2,26 +/- 0,05 (11)	0,8 +/- 0,1 (11)	1363 +/- 68 (11)	0,83 +/- 0,17 (4)
VII 30.10.-06.12.84	2,27 +/- 0,06 (9)	0,8 +/- 0,1 (6)	940 +/- 58 (8)	1,19 / 0,62 (2)
VIII 07.12.-22.01.85	2,27 +/- 0,02 (10)	1,1 +/- 0,1 (10)	1000 +/- 56 (10)	1,11 / 1,46 (2)
IX 23.01.-11.03.	2,32 +/- 0,04 (8)	1,0 +/- 0,0 (8)	1459 +/- 86 (8)	1,45 / 1,91 (2)
X 12.03.-12.05.	2,19 +/- 0,03 (8)	1,0 +/- 0,0 (8)	1546 +/- 103 (8)	1,33 / 1,60 (2)
XI 13.05.-26.07.	2,21 +/- 0,03 (7)	0,9 +/- 0,0 (6)	1638 +/- 106 (7)	2,10 / 2,19 (2)
XII 27.07.-11.11.85				
a iv + 2-12d	2,18 +/- 0,07 (4)	0,9 +/- 0,0 (3)	588 +/- 112 (4)	0,74 (1)
b iv + 14-30d	2,33 +/- 0,03 (4)	0,9 +/- 0,1 (3)	1332 +/- 108 (4)	1,71 / 1,44 (2)
XIII 12.11.-05.06.86				
a iv + 1d	2,85 +/- 0,15 (7)	0,9 +/- 0,1 (7)	828 / 1310 (2)	
b iv + 30d	2,23 +/- 0,06 (7)	0,7 +/- 0,1 (5)	1131 +/- 96 (7)	1,88 +/- 0,25 (4)
Normalbereich	2,2 - 2,8	1,3 - 2,3	110 - 600	0,30 - 0,90

Tabelle 19:

Verlauf der Mineralstoffwechsel- und Knochenumsatzparameter Osteokalzin und Parathormon im Serum, Zykloadenosinmonophosphat (cAMP) und Hydroxyprolin im Urin (bezogen auf die glomeruläre Filtration (GF) bzw. Kreatinin) und tubuläre Phosphatrückresorption (TRP) und das tubuläre Transportmaximum für Phosphat (TmPO₄) der Niere.

Alle Werte dieser Tabelle wurden von Prof. Dr. K. Kruse, Universitätskinderklinik Würzburg bestimmt. TRP und TmPO₄ wurden aus den Phosphat- und Kreatininkonzentrationen von simultan gewonnenem Serum und Urin berechnet.

Ein bis zwei Bestimmungen pro Zelle werden einzeln angegeben, mehr als zwei als Mittelwert +/- SEM; es folgt die Zahl der Bestimmungen in Klammern. Die Abschnitte III und IV (hochdosierte Kalzifertherapie), VII und VIII (Reduktion und Ende der kontinuierlichen Kalziuminfusion) und IX bis XI (Remissionstest) wurden jeweils zusammengefaßt, damit Mittelwerte gebildet werden konnten. Abschnitt XII zeigt Werte am Tag nach einer intermittierenden Kalziuminfusion (iv+dl) und 21. und 30. Tag danach (iv+d21-30).

	Zeitraum	Osteokalzin (ng/ml)	Parathormon (ng/ml)	cAMP (nmol/dl GF)	Hydroxyprolin (µg/mg Krea)	TRP (%)	TmPO ₄ (mmol/l)
II	09.07.84	2,8	(1) 2,88	(1) 13,6	(1) 1988	(1) 47	(1) 0,4
III/IV	19.07.-24.09.84	10,7+/-1,4	(4) 3,43+/-0,21	(4) 12,5+/-1,4	(5) 1673+/-232	(4) 70+/-6	(5) 0,6+/-0,1
V	27.09.84	10,6	(1) 2,72	(1) 15,7	(1) 1118	(1) 70	(1) 0,6
VI	01.10.-29.10.84	11,5+/-1,2	(4) 0,83+/-0,17	(4) 5,0+/-1,3	(4) 882+/-	(4) 96+/-2	(4) 1,2+/-0,1
VII/VIII	30.10.-27.01.85	11,5+/-2,3	(3) 1,10+/-0,18	(4) 7,5+/-1,7	(4) 930+/-274	(4) 95+/-1	(4) 1,6+/-0,2
IX-XI	23.01.-26.07.85	17,6+/-1,9	(3) 1,76+/-0,14	(6) 10,8+/-1,1	(5) 930+/-133	(4) 86+/-1	(6) 1,2+/-0,1
XIIa	iv + 1d	-	0,74	(1) 8,8	(1) 688	(1) 98	(1) 1,5
XIIb	iv + 21-30d	5,6	(1) 1,44 / 1,71	(2) 10,0	(1) 710	(1) 79	(1) 0,8
	Normalbereich	7,7 - 15,3	0,30 - 0,90	1,6 - 4,9	82 - 218	82 - 90	1,3 - 2,6

Tabelle 20: Plasmaspiegel von 25(OH)D, 1,25(OH)D und 24,25(OH)D im Verlauf

25(OH)D und 1,25(OH)D wurden von Herrn PD Dr. H. Schmidt-Gayk, Chirurgische Klinik der Universität Heidelberg, gemessen; 24,25(OH)D von Frau Dr. S. Balsan, Directeur des Recherches am Hôpital des Enfants Malades, Paris.

	25(OH)D (ng/ml)	1,25(OH)D (pg/ml)	24,25(OH)D (ng/ml)	
22.06.1984	539	320	0,3	1)
03.09.1984	931	2334	1,4	
19.01.1985	1042	>2000	-	2)
04.04.1985	-	7484	-	3)
Norm	20-120	30-70	1,0 - 3,0	

1) Werte vor Therapie.

2) Zu einer genaueren Bestimmung von 1,25(OH)D war nicht genug Serum vorhanden.

3) Auf die Messung von 25(OH)D wurde verzichtet, um ausreichend Material für die exakte Bestimmung von 1,25(OH)D zu erübrigen.

Tabelle 21a: Kalzium, Phosphat, Kreatinin und Eiweiß im 24-Stunden-Urin.

Nach dem Datum der Bestimmung sind zur leichteren Einordnung der Werte die Therapieabschnitte in römischen Ziffern angegeben.

Zeitraum	Kalzium (mmol/kg/d)	Phosphat (mmol/kg/24h)	Kreatinin (mg/kg/24h)	Eiweiß (mg/24h)	Urinvolumen (ml/24h)
14.06.84 (I)	0,031	0,30	8,6	56	70
18.06. (I)	0,047	0,44	-	102	290
02.07. (II)	0,029	1,48	7,4		175
11.07. (II)	0,021	1,43	9,2		150
06.08. (III)	0,006	0,32	5,4		110
16.11. (VII)	0,162	0,00	8,6		280
27.11. (VIII)	0,240	0,06	9,4		360
03.07.85 (XI)	0,028	0,60	17,4		220
Normalwerte	0,028 - 0,180	0,37 - 1,10	6 - 22	-150	

Tabelle 21b: Kreatinin-, Kalzium- und Phosphatausscheidung im Morgenurin

Für Kreatinin und Phosphat ist die Angabe von Normalwerten wegen des starken Einflusses äußerer Umstände auf den Morgenurin nicht sinnvoll. Der Quotient Kalzium: Kreatinin wird durch Division der beiden Werte in der Einheit mg/dl errechnet und ist somit benennungslos.

Zeitraum	Kreatinin (mg/dl)	Kalzium: Kreatinin	Phosphat (mmol/l)
III	19.07. - 22.08.84	28,8 +/- 4,0 (8)	34,0 +/- 3,0 (8)
IV	23.08. - 24.09.	28,7 +/- 2,6 (8)	28,0 +/- 3,0 (8)
VI	01.10. - 29.10.	27,0 +/- 4,8 (7)	3,3 +/- 1,0 (5)
VII	30.10. - 06.12.	19,3 +/- 5,2 (7)	0,59 +/- 0,18 (7)
VIII	07.12. - 22.01.85	23,3 +/- 3,3 (4)	4,9 +/- 4,2 (4)
IX	23.01. - 11.03.	38,7 +/- 6,7 (3)	32,0 +/- 7,0 (3)
X	12.03. - 12.05.	60,7 +/- 26,7 (3)	20,0 +/- 4,0 (3)
XI	13.05. - 26.07.	42 / 46 (2)	23 / 32 (2)
Normbereich		0,02 - 0,59	

Aminosäureausscheidung im Urin

Die Aminosäureausscheidung vor Therapie war deutlich erhöht (siehe 4.4.1). Sie wurde in der Folge mehrfach kontrolliert; dabei zeigten sich folgende Ergebnisse:

14.06.84	massiv erhöht	vor Therapie (Konzentrationen der einzelnen Aminosäuren siehe Aufnahmebefund)
05.08.84	erniedrigt	3 Wochen nach Beginn der Alfacalcidol mit 4 - 12 µg/d
04.10.84	massiv erhöht	10 Tage nach Beginn der Kalziuminfusionen (die Konzentrationen der Aminosäuren liegen in der gleichen Größenordnung wie im Juni 84)
13.11.84	normal	nach 7 Wochen Kalziuminfusion
03.05.85	leicht erhöht	15 Wochen nach Ende der Kalziuminfusion unter 1 g Kalziumbrause und 200 000 IE D ₃ (erhöht sind Glutamin, Histidin, Serin, Glycin und Lysin)

Auf die Nennung von Einzelkonzentrationen der Aminosäuren wurde verzichtet, da die Relation der Aminosäuren keine Besonderheiten zeigte und somit keine weiteren Aufschlüsse vermittelt.

Vitamin B₆

Da der Patient bei Aufnahme einen B₆-Mangel aufwies, wurde die Vitaminkonzentration im Vollblut kontrolliert. Bei einem Normalbereich von 4,7 bis 35,2 ng/ml Vollblut wurden folgende Werte gemessen:

06.06.84	1,0 ng/ml	vor Therapie
20.07.84	8,1 ng/ml	nach 14 Tagen 40 mg Pyridoxin pro Tag
13.09.84	61,0 ng/ml	unter 2 x 40 mg Pyridoxin pro Woche

Zusätzlich zu den obigen, im Vollblut gemessenen Werten wurde am 13.09.84 der Vitamin B₆-Spiegel im Plasma bestimmt. Er lag bei 16,3 ng/ml.

Tabelle 22: Eisen, Eisenbindungskapazität (EBK) und Ferritin

Zum Vergleich ist die zur Zeit der Bestimmungen durchgeführte orale Eisensubstitution in mg pro Tag angegeben. Ferritin wurde vom Institut für klinische Chemie der Universität München im Klinikum Großhadern bestimmt.

	Eisen (µg/dl)	EBK (µg/dl)	Ferritin (ng/ml)	Substitution (mg/d)
15.06.84	35	402		0
01.07.	168	446		33
06.07.	129	432		33
10.07.			28,7	33
16.07.	89	436		33
09.10.	72	455		33
24.10.	60	252		33
14.11.	115	552	16,0	33
13.12.			15,5	40
12.02.85	39	332		73
14.03.			11,4	73
14.06.	82	461		0
24.09.	95	449		59
Norm	40-160	250-400	40-300	

Endokrinologische Untersuchungen unter Therapie

Veranlaßt durch neu aufgetretenes Wachstum von Schambehaarung führten wir Untersuchungen der Sexualhormone durch.

Am 27.11.84 wurde ein 24-Stundenurin untersucht. Es ergaben sich Normalwerte für die Ausscheidung von Pregantriol, Pregantrion, Androsteron, Aetiocholanolon, Dihydroepiandrosteron, Pregandiol und Pregentriol.

Am 30.11.84 wurde mit 1 µg/dl ein infantiler Dihydroepiandrosteronsulfatwert im Plasma gemessen.

Am 04.03.85 wurde ein Growth Hormone Releasing Factor-Test mit 16 µg GRF durchgeführt.

Es ergaben sich folgende Werte:

vor Stimulation	0,6 µg/l	(normal 0 - 5)
15 min danach	36,9 µg/l	(normal 10 - 50)
30 min danach	41,1 µg/l	(normal 10 - 50)

Sonstige Parameter

Natrium, Kalium und Chlorid im Serum wurden in etwa zweiwöchigen Intervallen kontrolliert und waren unauffällig. Nur im September 1984 und im August 1985 kamen gelegentlich während Infusionen Werte knapp außerhalb des Normbereichs vor, die offensichtlich durch die intravenös zugeführten Elektrolytlösungen verursacht wurden.

Die Elektrolytausscheidung im 24-Stunden-Urin war bei mehrmaligen Kontrollen im Normbereich.

GOT und GPT stiegen im August 1985 während einer Septikämie auf 34 bzw. 43 U/l (normal bis 22 bzw. 24 U/l). Kurz darauf wurde auch ein gamma-GT-Wert von 34 U/l gemessen (normal bis 15 U/l). Ansonsten waren die Leberenzyme im Serum davor und danach bei mehrfachen Kontrollen im Normbereich.

Andere Laborparameter wie Kreatinin, Gesamteiweiß, Harnstoff, Harnsäure und Glukose waren bei routinemäßigen Kontrollen unauffällig.

4.6.2 Hämatologie

Der Verlauf wichtiger hämatologischer Parameter ist in den Tabellen 23 und 24 zusammengefaßt.

Auffallendste Befunde sind die ausgesprägte Erythroblastose und Retikulozytose, die von der Aufnahme im Juni 1984 bis Dezember 1984 vorlagen. Das mittlere Erythrozytenvolumen (MCV) war während des gesamten stationären Aufenthalts leicht bis mäßig erniedrigt.

Hämoglobin, Erythrozytenzahl und Hämatokrit lagen durchweg im Normbereich (Tabelle 23).

Das Differentialblutbild zeigt Tabelle 24. Anfangs bestand eine Leukozytose trotz klinischer Infektfreiheit mit Lymphozytose und extremer Linksverschiebung. Diese Befunde normalisierten sich im September/Okttober 1984. Danach fiel eine gewisse Neutropenie mit Mittelwerten von 950 - 1 650 Segmentkernigen pro μl auf, die sich bei fieberhaften Infekten bedrohlich verstärkte; der niedrigste Wert wurde während einer Sepsis Anfang Januar 1985 mit 290/ μl gezählt.

Knochenmarkshistologie

Die Nadelbiopsie vom November 1984 (VII; 7 Wochen nach Beginn der Kalziumdauerinfusion) bestand ähnlich wie bei den Voruntersuchungen (Kapitel 4.4.2) überwiegend aus Knorpel. Erstmals aber fand sich auch Spongiosa im Biopsiematerial. Der Knochenumbau schien deutlich gesteigert, die Hälfte der Bälkchen zeigte völliges Fehlen von Mineralisation.

Die Hämatopoese in den Markräumen, in denen sich nur nekrotische Zellen befanden, war weiterhin nicht beurteilbar. Auffallend war das völlige Fehlen von Eisenspeicherung nach über viermonatiger Eisensubstitution.

Die Myelotomie vom Juli 1985 (XI; 5 Monate nach Ende der Kalziumdauerinfusion) zeigte zwar noch eine tiefe Knorpelzone, aber auch eine hochgradig vermehrte Geflechtknochenneubildung. Vereinzelt war noch lamellärer Knochen zu sehen. Der Knochenumbau war deutlich erhöht. Die Markräume waren mit lockerem Fasergewebe gefüllt, es fanden sich aber auch Fettmark und erstmals hämatopoetische Zellen. Die Erythropoese wurde als reifungsgestört, die Granulo- und Megakaryozytopoese als deutlich reduziert beschrieben. Der Sideringehalt wurde als normal befundet.

Tabelle 23: Verlauf von Hämoglobin, Erythrozyten, Erythroblasten, Retikulozyten, Hämatokrit und mittlerem Erythrozytenvolumen (MCV).

Die Einteilung der Abschnitte I - XII wurde zu Beginn des Kapitels 4.6 erläutert. Ein bis zwei Bestimmungen sind einzeln angegeben, mehr als zwei Mittelwerte +/- SEM, in Klammern folgt die Zahl der Bestimmungen. Von den Abschnitten XIIB und XIII liegen keine Werte vor.

	Zeitraum	Hämoglobin (g/dl)	Erythrozyten (x10 ⁶ -Zellen/ μ l)	Erythroblasten (Zellen/ μ l)	Retikulo- zyten (‰)	Hämatokrit (%)	MCV (μ 3)						
I	14.06.-22.06.84	11,3 / 10,8	(2)	4,80 / 4,61	(2)	890 / 1230	(2)	72 / 71	(2)				
II	22.06.-18.07.	10,3+/-0,1	(6)	4,19+/-0,12	(6)	3210+/-1000	(6)	111+/-18	(4)	32,7+/-0,6	(6)	78+/- 1	(6)
III	19.07.-22.08.	11,3+/-0,2	(9)	4,69+/-0,09	(9)	830+/- 180	(8)	84+/- 8	(6)	36,2+/-0,7	(9)	78+/- 0	(9)
IV	23.08.-24.09.	11,6+/-0,3	(5)	4,74+/-0,12	(5)	430+/- 170	(5)	49+/- 4	(4)	37,2+/-0,8	(5)	80+/- 2	(5)
V	25.09.-30.09.	11,9+/-0,6	(3)	4,63+/-0,09	(3)	100+/- 100	(3)		(0)	35,9+/-1,3	(3)	79+/- 2	(3)
VI	01.10.-29.10.	10,2+/-0,2	(11)	4,11+/-0,06	(11)	270+/- 80	(10)	85+/-15	(8)	32,2+/-0,7	(11)	80+/- 1	(11)
VII	30.10.-06.12.84	11,4+/-0,3	(11)	4,68+/-0,16	(11)	220+/- 100	(9)	57+/-21	(7)	35,9+/-0,9	(11)	75+/- 1	(10)
VIII	07.12.-22.01.85	11,0+/-0,2	(10)	4,67+/-0,09	(10)	0	(9)	21+/- 4	(7)	34,0+/-0,6	(10)	72+/- 0	(10)
IX	23.01.-11.03.	11,2+/-0,1	(7)	4,88+/-0,08	(7)	10+/- 10	(7)	13+/- 3	(5)	34,2+/-0,4	(7)	69+/- 1	(7)
X	12.03.-12.05.	11,7+/-0,2	(7)	5,04+/-0,08	(7)	0	(6)	14+/- 5	(4)	36,8+/-0,5	(7)	73+/- 1	(7)
XI	13.05.-26.07.	12,3+/-0,2	(6)	5,07+/-0,09	(6)	0	(6)	16+/- 8	(4)	36,4+/-0,6	(6)	70+/- 0	(6)
XII	27.07.-11.11.85	11,5+/-0,7	(4)	4,69+/-0,24	(4)	0	(4)	20+/- 2	(3)	33,9+/-1,8	(4)	71+/- 0	(4)
a iv + 2-13d						0		-15					
Normbereich		10,5 -14,3		3,5 - 5,0		0				30 - 47		80 - 96	

Tabelle 24: Verlauf von Leukozyten, Differentialblutbild und Thrombozyten im peripheren Blut

Die Einteilung der Abschnitte I - XII wurde zu Beginn von Kapitel 4.6 erläutert. Alle Angaben erfolgen in Zellen pro μ l. Ein bis zwei Bestimmungen sind einzeln angegeben, mehr als zwei als Mittelwert $\pm$ SEM. Die Anzahl der Bestimmungen folgt in Klammern. Aus Abschnitt XII b und XIII liegen keine Werte vor. In XIII wurden mehrere Differentialblutbilder als "normal" befundet.

Zeitraum	Leukozyten	Lymphozyten	Monozyten	Basophile	Eosinophile
I 14.06.-22.06.84	16400 $\pm$ /-1300 (3)	9850 $\pm$ /-2030 (3)	750 $\pm$ /-430 (3)	290 $\pm$ /-200	560 $\pm$ /-230
II 23.06.-18.07.	19700 $\pm$ /-2400 (5)	10840 $\pm$ /-1110 (5)	1560 $\pm$ /-490 (5)	190 $\pm$ /-160	790 $\pm$ /-250
III 19.07.-22.08.	13300 $\pm$ /- 900 (9)	7740 $\pm$ /- 660 (8)	950 $\pm$ /- 80 (8)	50 $\pm$ /- 30	500 $\pm$ /-180
IV 23.08.-24.09.	10800 $\pm$ /- 970 (5)	7170 $\pm$ /- 480 (5)	390 $\pm$ /-130 (5)	40 $\pm$ /- 40	310 $\pm$ /- 50
V 25.09.-30.09.	8500 $\pm$ /-1000 (3)	4290 $\pm$ /-1300 (3)	130 $\pm$ /- 90 (3)	0	0
VI 01.10.-29.10.	8400 $\pm$ /- 400 (11)	5730 $\pm$ /- 470 (10)	330 $\pm$ /- 90 (10)	20 $\pm$ /- 20	110 $\pm$ /- 30
VII 30.10.-06.12.84	9100 $\pm$ /-1000 (11)	5700 $\pm$ /- 630 (9)	430 $\pm$ /-100 (9)	30 $\pm$ /- 20	90 $\pm$ /- 20
VIII 07.12.-22.01.85	8700 $\pm$ /-1400 (10)	4740 $\pm$ /- 540 (9)	280 $\pm$ /- 80 (9)	10 $\pm$ /- 10	150 $\pm$ /- 50
IX 23.01.-11.03.	7000 $\pm$ /- 200 (7)	4950 $\pm$ /- 190 (7)	440 $\pm$ /- 70 (7)	10 $\pm$ /- 10	260 $\pm$ /- 50
X 12.03.-12.05.	7000 $\pm$ /- 300 (7)	5280 $\pm$ /- 480 (6)	270 $\pm$ /- 50 (6)	10 $\pm$ /- 10	150 $\pm$ /- 60
XI 13.05.-26.07.	7500 $\pm$ /- 300 (6)	5920 $\pm$ /- 280 (6)	200 $\pm$ /- 30 (6)	0	0
XII 27.07.-11.11.85	7200 $\pm$ /- 600 (4)	5830 $\pm$ /- 650 (4)	240 $\pm$ /- 60 (4)	20 $\pm$ /- 20	160 $\pm$ /- 60
a iv + 2 - 18d	9500	5500	500	50	250
Anhaltswerte					

Fortsetzung Tabelle 24

	Zeitraum	Myelozyten	Jugendliche	Stabkernige	Segmentkernige	Thrombozyten
I	14.06.-22.06.84	300 +/- 160	(3) 530 +/- 270	630 +/- 340	3400 +/- 370	108 (1)
II	23.06.-18.07.	580 +/- 160	(5) 760 +/- 330	1230 +/- 340	3810 +/- 570	153 +/- 16 (3)
III	19.07.-22.08.	340 +/- 70	(8) 460 +/- 160	810 +/- 100	2140 +/- 300	118 +/- 18 (5)
IV	23.08.-24.09.	180 +/- 130	(5) 130 +/- 80	350 +/- 120	2080 +/- 330	167 +/- 14 (5)
V	25.09.-30.09.	170 +/- 170	(3) 0	740 +/- 290	2780 +/- 650	173 +/- 10 (3)
VI	01.10.-29.10.	420 +/- 20	(10) 40 +/- 20	250 +/- 90	1880 +/- 190	193 +/- 16 (10)
VII	30.10.-06.12.84	0	(9) 0	330 +/- 170	2760 +/- 770	359 +/- 45 (10)
VIII	07.12.-22.01.85	0	(9) 0	570 +/- 500	3110 +/- 1230	356 +/- 26 (7)
IX	23.01.-11.03.	0	(7) 0	90 +/- 60	1190 +/- 260	340 / 401 (2)
X	12.03.-12.05.	0	(6) 0	0	1390 +/- 230	387 +/- 13 (4)
XI	13.05.-26.07.	0	(6) 0	40 +/- 20	1220 +/- 130	272 +/- 13 (5)
XII	27.07.-11.11.85					
	a iv + 2 - 18d	0	(4) 0	20 +/- 20	950 +/- 130	386 +/- 39 (4)
	Anhaltswerte	0	0	300	3500	100 - 400
	Benennung	Zellen/ μ l	Zellen/ μ l	Zellen/ μ l	Zellen/ μ l	$\times 10^3$ Zellen/ μ l

Gerinnung

Bei der routinemäßigen Überprüfung des Gerinnungsstatus war die plasmatische Gerinnung normal (Tabelle 25), das Thrombelastogramm aber pathologisch (Tabelle 26). Die Befunde wurden durch Kontrollen gesichert.

Tabelle 25: Plasmatische Gerinnung

Thromboplastinzeit (Quick), partielle Thromboplastinzeit (PTT), Thrombinzeit und Fibrinogen im Plasma.

	Quick	PTT	Thrombin- zeit	Fibrinogen
15.06.84	100	38,6	14,5	360
09.10.84	100	31,7	14,9	290
15.07.85	100	33,7	14,0	245
26.07.85	100	30,7	14.2	300
06.09.85		37,8		
29.10.85	100	35,9	14,6	240
Norm	70-120 %	<60 sec	<11 sec	200-400 mg/dl

Tabelle 26: Thrombelastogramm

Reaktionszeit (r), Thrombusbildungszeit (k), Maximalamplitude (ma) und maximale Thrombuselastizität (m_e).

	r	k	ma	m_e
15.06.84	11,5	8,0	40	67
09.10.84	21,5	11,5	42	72
26.07.85	14,5	5,0	59	144
Norm	<12 min	<6 min	47 - 60 mm	90 - 150

Zur weiteren Abklärung untersuchten wir die Faktoren VIII und IX und führten eine von-Willebrand-Jürgens-Diagnostik durch. Diese Untersuchungen zeigten unauffällige Befunde (Tab. 27).

Tabelle 27: Erweiterter Gerinnungsstatus

Faktoren VIII und IX, Faktor VIII-assoziiertes Antigen (VIII ass.Ag) und Ristocetintest. Bei Faktor VIII und IX handelt es sich um Aktivitätsangaben, VIII ass.Ag wird mit einem Elektroimmunoassay bestimmt, beim Ristocetintest wird die Aggregationsfähigkeit von Thrombozyten nach Ristocetinzugabe beurteilt.

Alle Bestimmungen werden mit Kontrollen verglichen und in Prozent angegeben. Der Normbereich liegt jeweils zwischen 70 % und 120 %.

	Faktor VII	Faktor IX	VIII ass.Ag	Risto- cetin
06.09.85	100 %	80 %	104 %	80 %
29.10.85			136 %	62 %

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß der Patient eine reproduzierbare Thrombozytenfunktionsstörung aufweist. Da klinisch kein Hinweis auf eine erhöhte Blutungsneigung bestand, führten wir keine weitere Diagnostik und keine Therapie durch.

4.6.3 Immunologie

Infektionen

Neben einer Reihe von Infektionen, die gelegentlich auch bei normalen Kleinkindern auftreten, fielen bei dem Patienten vor allem vier Septikämien innerhalb eines Jahres auf.

Folgende leichte Infekte traten während des 17monatigen stationären Aufenthaltes auf:

- Mehrfach follikuläre Dermatitis an Hals und Thorax; aus Abstrichen konnten bakterielle Mischflora und Candida albicans nachgewiesen werden.

- Mehrfach Soor im Genital- und Analbereich.
- Mehrfach Infektionen der oberen Luftwege; gelegentlich mit Temperaturen bis 38,5°.
- Häufig singuläre Pusteln, meist im Gesicht, gelegentlich auch am Stamm.
- Nach der Myelotomie im Juli 1985 eiterte die Wunde einige Tage; im Abstrich konnte *Proteus vulgaris* nachgewiesen werden.

Die dermalen Infektionen wurden mit entsprechenden antiinfektiösen Externa behandelt. Sie heilten alle in als normal zu bezeichnender Frist ab. Die fieberhaften Infektionen des Respirationstraktes wurden mit Antibiotika-säften behandelt (s. 4.5.4).

Der Patient hatte vier Septikämien: Ende September 1984, Ende Oktober 1984, Mitte Dezember 1984 und Anfang August 1985. Bei der ersten konnten in den Blutkulturen keine Erreger nachgewiesen werden, bei der zweiten und dritten *Klebsiella pneumoniae*, bei der vierten *Proteus vulgaris* und andere, nicht differenzierbare gramnegative Keime. Alle Septikämien fanden während Kalziuminfusionen statt, obwohl besondere Sorgfalt bezüglich Hygiene und Desinfektion angewandt wurde. Bei der vierten Sepsis kam auch die Myelotomiewunde als Eintrittspforte in Frage: Der Eingriff fand vier Wochen vor der Sepsis statt und in einem Abstrich der Wunde konnte einige Tage später mit *Proteus vulgaris* der gleiche Keim wie bei der Sepsis isoliert werden.

Obwohl die Septikämien innerhalb kürzester Zeit den Allgemeinzustand des Patienten dramatisch verschlechterten, sprachen sie gut auf die gezielte intravenöse Antibiotikatherapie (s. 4.5.4) an. Der Patient entfieberte rasch, brauchte aber jeweils mehrere Wochen, um sich von den schweren Infektionen zu erholen.

Nachdem sich klinisch bei dem Patienten eine erhöhte Infektionsanfälligkeit gezeigt hatte, wurde eine Vielzahl

von immunologischen Untersuchungen durchgeführt. Über die pathologische Granulozytenchemotaxis wird in einem eigenen Kapitel (5.1) berichtet.

Weiter fiel auf, daß bei mehreren Kontrollen keine IgG-Titer gegen Lipoid A gefunden werden konnten, obwohl während der gramnegativen Septikämien mit 1:10.000 hohe IgG-Titer vorlagen. Folgende Untersuchungen ergaben Normalbefunde:

- T-ZELLEN: Anzahl reifer T-Zellen im peripheren Blut (Monoklonale Antikörper (MKA) T15-1 und T-811) und mehrfach durchgeführter Hauttest (Multitest Merieux^R positiv für Diphtherie, Tetanus und Tuberkulin).
- B-ZELLEN: Anzahl reifer B-Zellen im peripheren Blut (MKA HLA-DR und B1), altersbezogene Serumspiegel von IgG, IgM, IgA, IGE, IgD und IgG-Unterklassenverteilung.
- LYMPHOZYTENTRANSFORMATION: Spontan und stimuliert mit PHA, ConA, PWM und Antigenen.
- ALPHA-INTERFERON: In vitro-Produktion
- INTERLEUKINE: IL 1 und IL 2 (siehe Kapitel 5.2)
- GRANULOZYTEN: Phagozytose und Bakterizidität gegen *Staphylokokkus aureus* und *Candida albicans* (Bakterienkolonie-Technik), Myeloperoxidase-Färbung und Nitroblautetrazolium-Test.
- KOMPLEMENT-SYSTEM: CH 50 und Serumspiegel von C3 und C4.
- NK-ZELLEN: Anzahl der NK-Zellen im peripheren Blut (MKA HNK 1) und Aktivität gegen die Tumorzelllinien k 562 und PDE Bl.

4.6.4 Stuhl

Nach der Behandlung der Lambliasis mit Ornidazol war der Stuhl bei regelmäßigen Kontrollen parasitenfrei.

Im September 1984 ließen wir die Stuhlfette messen, um eine Fettmalabsorption auszuschließen, die die Wirksamkeit

unserer oralen Therapie mit den lipophilen Kalziferolen beeinträchtigen könnte. Es wurde in drei- bis sechstägigen Perioden sämtlicher Stuhl des Patienten gesammelt. Da die Fettmenge im Stuhl von Tag zu Tag stark schwankt, beeinflusst durch Nahrung, Defäkationsmenge usw., wird der Stuhl gemischt und als Ergebnis das Mittel der Stuhlfettsäuren pro Tag angegeben. Die Messungen wurden im gastroenterologischen Labor der Medizinischen Universitätsklinik Innenstadt der LMU durchgeführt (Tab. 28).

Tabelle 28: Stuhlfette und orale Kalziumtherapie

Angegeben ist die durchschnittliche tägliche Ausscheidung von Fetten im Stuhl während einer Sammelperiode von 3 bis 6 Tagen und die durchschnittliche Therapiedosis an oralem Kalzium im selben Zeitraum. Der Normalbereich für die Stuhlfettausscheidung liegt bei Kleinkindern zwischen 0,2 und 2,9 Gramm pro Tag.

Datum	Stuhlfette (g/d)	Kalziumtherapie p.o. (g/d)
12.09.84	12,1	3,8
01.11.84	3,5	2,3
20.02.85	5,6	1,6
04.03.85	5,1	1,0
15.03.85	4,0	1,0
01.08.85	2,3	0

Nach fünf Messungen der Stuhlfette schien ein Zusammenhang zwischen oraler Kalziumtherapie möglich: Hochdosiertes Kalzium (3,8 g/d) ging mit hohem Stuhlfett (12,1 g/d) einher, niedriger dosiertes Kalzium (1,0 - 2,3 g/d) mit niedrigeren Stuhlfetten (3,5 - 5,6 g/d).

Wir prüften diese Hypothese, indem wir während der Kalziuminfusion im August 1985 die orale Kalziumtherapie für einige Tage absetzten und zwei Tage nach der letzten oralen Kalziumsubstitution die Stuhlfette bestimmen ließen. Es ergab sich erstmals ein Wert im Normbereich, der unsere Hypothese unterstützte.

4.6.5 Röntgen und Sonographie

Röntgen

In der Zeit von Juli bis Oktober 1984 wurde einmal das komplette Skelettprogramm und mehrfach Aufnahmen der Hand durchgeführt. Dabei zeigten sich kaum Änderungen gegenüber dem Aufnahmebefund (siehe Kap. 4.4.5). Weiterhin war kein Osteoid zu erkennen. Die Mineralisation nahm eher noch etwas ab.

Im September wurde am linken Oberarm eine neue Fraktur diagnostiziert, ohne daß ein entsprechendes Trauma stattgefunden hätte. Die Thoraxaufnahme zeigte weiterhin eine rachitische Lunge.

Anfang November 1984 zeigte sich erstmals eine Besserung am Handskelett: Es war eine Apposition im kortikalen und enchondralen Bereich zu sehen, jedoch keine präparatorische Mineralisationszone. Durch die etwas verbesserte Verkalkung war auch die scharfwinklige BWS-Skoliose deutlicher zu erkennen, allerdings war der Strahlendichteunterschied zum umliegenden Gewebe noch nicht groß genug, um eine Aussage über die Ursache (z. B. Halbwirbel oder Destruktionen) zu treffen.

In den nächsten Monaten nahm die Mineralisation weiter zu. Am 28. Januar 1985 war erstmals die rachitische Becherung von Radius und Ulna zu erkennen. Von den Knochenkernen des jetzt 41 Monate alten Patienten waren die distalen Epiphysen vom Radius (erscheint in der Regel zwischen 12. und 18. Lebensmonat) und der Metacarpalia II und III (18. - 36. LM) und die basalen Epiphysen der Grundphalangen II - IV (21. - 45. LM) zu sehen (siehe Anhang Abb. 20b).

Am 12. März hatte die Ossifikation kräftig zugenommen, vor allem periostal und desmal, kaum endostal. Auch die Wirbelsäule war jetzt besser durchbaut, die Skoliose aber unverändert. Die Frakturen waren mittlerweile verheilt.

Die Kortikales der Extremitäten waren lamellär, die Epiphysen zum Teil kokardenförmig; es ergab sich das Bild "bone in bone".

Bei Verlaufskontrollen zeigten sich weiter Befundbesetzungen, insgesamt blieben aber deutlich Veränderungen des Skeletts bestehen. Eine Thoraxkontrolle im August 1985 ergab erstmals eine unauffällige Lungenstruktur. Am 8.11.1985 wurde vor der Entlassung nochmals ein kompletter radiologischer Skelettstatus durchgeführt. Trotz erheblicher Mineralisation lag weiterhin eine floride Rachitis mit Becherung der Metaphysen vor. Die Ossifikation der großen Epiphysenkerne war grob unregelmäßig, auch am distalen Femur sah man zahlreiche längsgerichtete Lakunen. Insgesamt war vor allem ein appositionelles periostales Knochenwachstum zu erkennen, das zu "bone in bone"-Phänomenen führte. Es bestand nach wie vor eine starke S-förmige Skoliose; hier schien mindestens ein Brustwirbel zugrundegegangen zu sein. Die Schädelbasis war kurz, die -kapsel sehr dick. Die vorderen Nähte waren noch offen.

Sonographie

Bei sonographischem Nierenbefund wurde aufgrund des manchmal auffälligen Binnenechomusters mehrfach eine beginnende Nephrokalzinose diskutiert. Zur sicheren Klärung dieses Verdachts, der bei der hochdosierten Vitamin D- und Kalziumtherapie besonders ernst genommen werden mußte, führten wir ein Computertomogramm der Nieren durch, das einen völlig unauffälligen Befund ergab.

Im November 1985, kurz vor der Entlassung, ließen sich sonographisch keine Epithelkörperchen darstellen.

4.6.6 Körpergröße und -gewicht, Leber- und Milzgröße, Zahnstatus und Schambehaarung

Bei der Aufnahme wog der Patient 6 460 g und lag damit weit unter der dritten Perzentile. Während der Sondierung der Nahrung nahm der Patient 3 140 g zu, etwa 300 g pro Monat.

In den ersten zwei Wochen nach Beendigung der Sondierung verlor er fast 600 g, dann begann er wieder zuzunehmen und erreichte sein Gewicht bei Sondierungsende nach etwa drei Monaten wieder. Leider verlor er dann erneut, durch eine Sepsis bedingt, fast 600 g, danach allerdings nahm er bis zur Entlassung in zwei Monaten 900 g zu. Er verließ das Krankenhaus mit einem Gewicht von 9 980 g, mit einem Gewichtszuwachs 3 520 g in knapp 17 Monaten. Damit lag er trotz aller Bemühungen immer noch deutlich unter der dritten Perzentile. In dieser Hinsicht kann man von einem Teilerfolg sprechen: Es gelang zwar, das Gewicht des Patienten klar zu steigern, aber es war nicht möglich, den bei Aufnahme bestehenden Rückstand aufzuholen. In den ersten drei Monaten nach seiner Heimkehr stieg das Gewicht des Patienten auf 11 kg, um in den folgenden drei Monaten wieder auf 10,0 kg abzusinken. Damit hat der Patient sein Gewicht seit der stationären Entlassung in sechs Monaten nicht vergrößern können und sich wieder weiter von der 3. Perzentile entfernt (siehe Anhang Abb. 18 und 19b).

Der Zusammenhang zwischen dem 1,25(OH)D-Rezeptordefekt und der Gedeihstörung des Patienten ist unklar.

Leber- und Milzgröße

Der Verlauf der Hepatosplenomeglie wurde regelmäßig palpatorisch untersucht (Tabelle 30). Gegenüber dem Beginn des stationären Aufenthalts des Patienten zeigt sich ein Rückgang der Leber- (von 3 - 6 auf 2 - 3 cm) und Milzgröße (von 3,5 - 7 auf 2 cm). Während der Septikämien im Oktober 1984 und August 1985 zeigte sich kein weiterer Rückgang bzw. sogar ein Wiederanwachsen der Hepatomegalie.

Tabelle 29: Verlauf der palpatorischen Leber- und Milzgröße

Die Zentimeterangaben beziehen sich auf den Abstand der unteren Organgrenze vom Rippenbogen.

		LEBER	MILZ
Juni - September	1984	3 - 6 cm	3,5 - 7 cm
Oktober	1984	5 cm	7 cm (Sepsis)
April - Juli	1985	4 - 5 cm	3,0 - 4 cm
August	1985	6 cm	5,0 - 6 cm (Sepsis)
Oktober	1985	2 - 3 cm	2 cm

Zahnstatus

Nach Beginn der Kalziuminfusion besserte sich parallel zur Skelettmineralisation auch der Zustand des Gebisses. Die nur zum Teil durchgebrochenen medianen unteren Schneidezähne vollendeten ihre Entwicklung, und weitere Zähne des Milchgebisses brachen durch. Unter der regelmäßigen Fluoridierung der Zähne trat trotz der Schmelzdefekte keine Karies auf.

Schambehaarung

Im Januar und im August 1985 traten bei dem Patienten vorübergehend Achsel- und Schambehaarung auf. Es waren einzelne lange, weiche, zum Teil gekräuselte Haare vorhanden (Pubes II nach Tanner), die jeweils nach einigen Wochen wieder verschwanden. Es fiel auf, daß beide Episoden nach Kalziuminfusion und mit parenteralen Antibiotika behandelten Septikämien auftraten.

5. EXPERIMENTELLER TEIL

5.1 Granulozytenchemotaxis

5.1.1 Methoden

Die Untersuchung der Granulozytenchemotaxis wurden im immunologischen Labor der Haunerschen Universitätskinderklinik (Prof. Dr. Bernd Belohradsky) mit Hilfe von Frau Evi Eisl durchgeführt.

Die Chemotaxisplatten wurden einen Tag vor der Untersuchung in Petrischalen (60 x 15 mm; Fa. Falcon) gegossen. Die folgenden Mengenangaben beziehen sich auf 2 Platten:

- 1) 144 mg Agarose L (Fa. Behring) wurden mit 6 ml aqua dest. aufgelöst, 10 Minuten im Wasserbad aufgeköcht und anschließend im Wasserbad auf 56 ° abgekühlt.
- 2) 1,2 ml 10 x 199 Medium mit Hanks Salzen (H 199, Fa. Flow) 1,2 ml fetal calf serum (Fa. Gibco) und 3,6 ml Aqua dest. wurden gemischt und auf pH 7,3 - 7,4 eingestellt. Anschließend wurde die Lösung im Wasserbad etwa 30 Minuten lang auf 56 ° erwärmt.

Die beiden Lösungen wurden warm zusammengemischt und mit einer angewärmten Pipette jeweils etwa 5,5 ml davon in die zwei Petrischalen gegeben. Die Agarplatten erstarrten bei Abkühlung und wurden bis zur Bestimmung im Kühlschrank aufbewahrt.

Von Patient und Kontrolle wurde Heparinblut abgenommen. Über einem Ficoll-Isopaque-Gradienten wurden die Lymphozyten/Monozyten abgetrennt und dann über eine 2:1 Dextran-Sedimentation die Granulozyten gewonnen. Die restlichen unter den Granulozyten befindlichen Erythrozyten wurden mit NH_4Cl 4 Minuten bei 4 ° lysiert.

Anschließend wurden die Granulozyten zweimal mit Hank'scher Lösung gewaschen und auf 10^7 Zellen pro ml eingestellt.

In die Agarplatte wurden mit einer Schablone und einer 3 mm Stanzkanüle 15 Löcher gestanzt und mit einer Wasserstrahlpumpe vorsichtig abgesaugt. Für die Anordnung und Numerierung der Löcher siehe Abbildung 3.

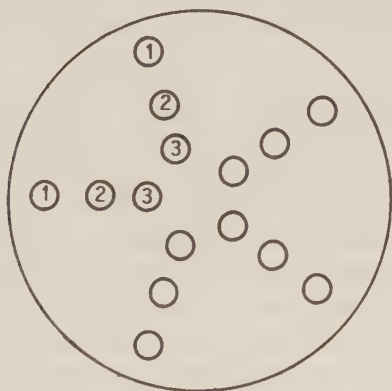


Abb. 3 - Agarplatte für Granulozytenchemotaxis mit Anordnung und Numerierung der eingestanzten Löcher.

In Loch 1 wurden jeweils 10 μ l einer nicht chemotaktischen Substanz (10 x 199 Medium) eingebracht, in Loch 2 je 10 μ l der Granulozytensuspension entsprechend 10^5 Zellen und in Loch 3 10 μ l chemotaktische Substanz. Bei unseren Untersuchungen verwendeten wir f-Methionyl-Leucyl-Phenylalanin (Fa. Sigma) in einer Konzentration von 1,47 μ g/ml in GBSS (Fa. Gibco) gelöst.

Die Platte wurde 2 Stunden bei 37 ° in CO₂-Milieu bebrütet und anschließend je 30 Minuten mit jeweils 3 ml Methanol und 37 % Formaldehyd bedeckt. Danach wurde der Agar vorsichtig entfernt, die Platte mit Aqua dest. ausgespült und getrocknet.

Die Auswertung erfolgte unter dem Mikroskop mit einem graduerten Okular bei 63facher Vergrößerung ($10 \times 6,3$). Gemessen wurde die Wanderung der Zellen in Richtung der chemotaktischen Substanz (A) und die ungerichtete Migration der Zellen in Richtung des inerten Mediums (B). A - B ist dann die Chemotaxis der Granulozyten. Die Wegstrecken wurden in mm gemessen.

Modifikationen zur Untersuchung der Abhängigkeit der Granulozytenchemotaxis von der Kalzium- bzw. Vitamin D-Konzentration.

Wir untersuchten die Frage, ob sich die Chemotaxis nach Zugabe von verschiedenen Konzentrationen von Vitamin D und/oder Kalzium normalisieren ließ.

Wir gaben der Granulozytensuspension CaCl zu, so daß sich Endkonzentrationen von 2,5 mmol/l (Ca 1), 5 mmol/l (Ca 2) und 10 mmol/l (Ca 3) ergaben. Wir lösten $1,25(\text{OH})\text{D}_3$ (Ro 21-5535, unter Argon verschlossen; freundliche Gabe von Dr. W. Meier, Hoffmann-La Roche, Schweiz) in reinem Äthanol. Die Lösung wurde in Reagenzgläser pipettiert, der Alkohol anschließend verdampft. Dann wurde die Zellsuspension zugegeben und auf dem Rüttler gemischt. Es wurde jeweils so viel von der $1,25(\text{OH})\text{D}$ -Lösung zugegeben, daß in der Suspension Endkonzentrationen von 10^{-8}M (D 1), 10^{-7}M (D 2) und 10^{-6}M (D 3) entstanden.

Für die Modifikation der beschriebenen Chemotaxisprotokolle durch Kalzium und $1,25(\text{OH})\text{D}$ -Zugabe ist es von Vorteil, einen Kontrollansatz zu schaffen, bei dem die beiden Substanzen weder in Agar noch in der Zellsuspension vorhanden sind.

H 199 enthält unter anderem 100 ng/ml D_3 und 1,45 mmol/l Ca. Ersteres entspricht etwa der 30fachen D_3 -Konzentration im menschlichen Serum. Es ist zu betonen, daß es sich bei der hohen Vitamin-Konzentration um D_3 handelt, das erst zweimal hydroxyliert werden muß, um biologische Wirksamkeit zu erhalten. Offensichtlich soll durch starken Substratdruck die Syntheserate der Zellen in der Kultur angeregt werden.

Wir ersetzten deshalb H 199 in Agar und Zellsuspension durch Minimal Essential Medium für Suspensionskulturen (MEM-S; ohne Kalzium und Vitamin D) oder RMPI 1640 (0,42 mmol/l Ca, kein Vitamin D). In beiden Fällen war bei sonst unveränderten Bedingungen keine Wanderung von Zellen eines gesunden Probanden festzustellen. Daran änderte auch die Zugabe von Kalzium und/oder 1,25(OH)D in die Zellsuspension nichts. Dies zeigte, daß die Zellen zur Wanderung Substanzen, die nur in H 199 enthalten sind, benötigen.

Die nächste Versuchsreihe führten wir deshalb mit nichtmodifizierten Platten (mit H 199) durch. Die Zellsuspension wurde mit MEM-S und Hank'scher Lösung kalziumfrei (Hcf; Fa. Flow) hergestellt. Bei diesen beiden Modifikationen war eine ausreichende Wanderung der Zellen eines gesunden Probanden festzustellen (Daten nicht gezeigt). Die eigentlichen Untersuchungen führten wir daraufhin mit Platten durch, deren Agar wie eingangs beschrieben mit H 199 hergestellt wurde. Bestimmungen unter Zugabe von 1,25(OH)D zu den Platten erschien uns nicht sinnvoll, da es nicht abschätzbar war, ob und wieviel 1,25(OH)D die Granulozyten während des Versuchs aus dem im Agar enthaltenen Vitamin D₃ produzierten. Da es aus technischen Gründen nicht möglich ist, 1,25(OH)D nach dem Versuch im Agar zu messen, hätten nicht genug Informationen vorgelegen, um die Resultate sachgerecht zu interpretieren.

Dagegen schien uns eine Zugabe von Kalzium zum Agar erfolgversprechend. Für die kalziumreiche Platte gaben wir zur Lösung 2 (H 199, FCS, Aqua dest; 6 ml) 40 µmol Ca als CaCl₂. Danach ließen wir im Labor der Kinderklinik die Kalziumkonzentrationen in der Lösung 2 mit und ohne Kalziumzugabe bestimmen. Es wurde 3,33 mmol/l Ca für die normale und 9,86 mmol/l für die angereicherte Lösung gemessen. Da diese Lösungen dann im Verhältnis 1:1 mit dem Agar gemischt wurden, enthielten die Platten 1,67 bzw. 4,93 mmol/l Kalzium.

5.1.2 Ergebnisse

Tabelle 30: Verlauf der Granulozytenchemotaxis

Angegeben ist die Differenz der gerichteten und ungerichteten Zellwanderung in mm. Es folgt die prozentuale Angabe der Patientenchemotaxis (Kontrolle = 100 %). Als Kontrolle wurden Zellen gleichaltriger, gesunder Personen verwendet.

Datum	Patient	Kontrolle	Relation
08.01.85	3,6	5,8	62 %
29.01.85	3,4	6,0	57 %
07.05.85	5,8	10,8	54 %
14.08.85	2,1	4,7	45 %
15.08.85	3,2	4,9	64 %

Im Durchschnitt lag die Chemotaxis des Patienten bei 57 +/- 3 % der Kontrolle (Mittelwert +/- SEM; n = 5). Die Chemotaxis des Patienten ist damit signifikant ($p < 0,028$ im Students T-Test für unverbundene Stichproben) gegenüber den Kontrollen vermindert.

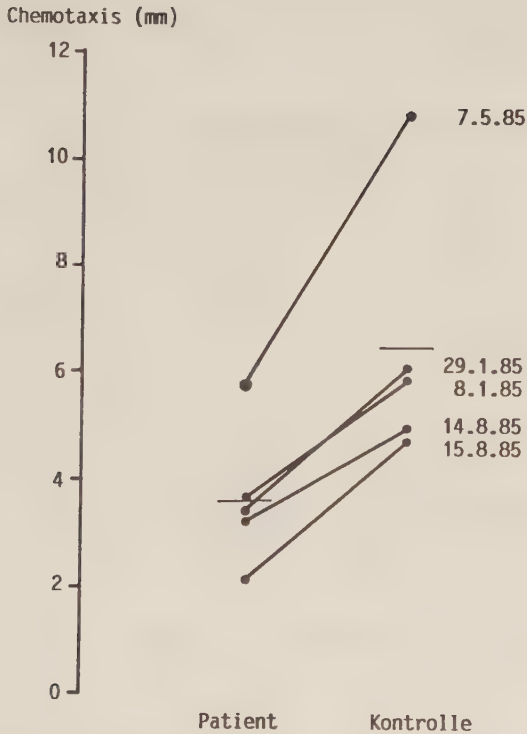


Abb. 4 - Vergleich der Granulozytenchemotaxis von Patient und Kontrolle.
Die Werte des Patienten und der jeweiligen Kontrolle sind mit einer Linie verbunden. Neben den Kontrollwerten ist das Untersuchungsdatum angegeben. Die Mittelwerte von Patient und Kontrolle sind mit waag-rechten Strichen markiert. Es wurden die Werte aus Tab. 30 verwendet.

Tabelle 31: Ergebnisse der modifizierten Granulozyten-chemotaxis

Die Daten sind gezeigt als gerichtete minus ungerichtete Zellwanderung ist gleich Chemotaxis. Den Suspensionen von Patienten(Pat)- und Kontroll(Ko)-Zellen wurde Kalzium, (Ca) und 1,25(OH)D (D) in verschiedenen Konzentrationen zugegeben. D 0/Ca 0 = bedeutet keine Zugabe, D 1/Ca 1 die niedrigste, D 3/Ca 3 die höchste Konzentration. Die Platten I bis IV sind unmodifiziert, den Platten V und VI wurde Kalzium zugegeben.

Nicht modifizierte Platten (3,33 mmol/l Ca im Agar)

I		Ko II	
Pat Ca 0	3,5 - 1,4 = 2,1	Kg Ca 0	6,6 - 0,6 = 6,0
Pat Ca 1	3,7 - 1,3 = 2,4	Kg Ca 1	6,6 - 0,6 = 6,0
Pat Ca 2	4,0 - 1,6 = 2,4	Kg Ca 2	5,6 - 1,6 = 4,0
Pat Ca 3	4,3 - 1,4 = 2,7	Kg Ca 3	6,2 - 1,7 = 4,5
Ko Ca 0	5,2 - 0,5 = 4,7		
III		IV	
Pat D 0	5,0 - 1,8 = 3,2	Ko D 0	7,0 - 0,5 = 6,5
Pat D 1	4,2 - 1,5 = 2,7	Ko D 1	7,0 - 1,0 = 6,0
Pat D 2	3,8 - 1,4 = 2,4	Ko D 2	5,6 - 1,5 = 4,1
Pat D 3	3,6 - 1,2 = 2,4	Ko D 3	4,5 - 1,5 = 3,0
Ko D 0	6,1 - 1,2 = 4,9		

Modifizierte Platten (9,86 mmol/l Ca im Agar)

V		VI	
Pat D 0	4,5 - 1,5 = 3,0	Ko D 0	6,0 - 1,0 = 5,0
Pat D 1	4,5 - 1,0 = 3,5	Ko D 1	5,0 - 0,3 = 4,7
Pat D 2	4,0 - 0,0 = 4,0	Ko D 2	5,0 - 0,4 = 4,6
Pat D 3	1,0 - 0,0 = 1,0	Ko D 3	2,0 - 0,8 = 1,2
Ko D 0	4,8 - 0,7 = 4,1	Pat Ca 3	1,4 - 0,0 = 1,4

Zellwanderung (mm)

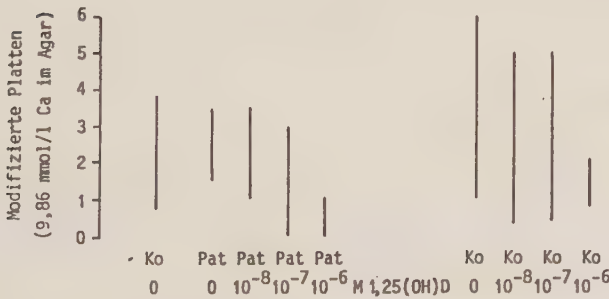
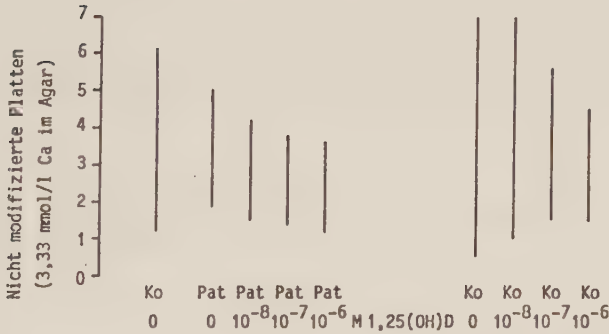
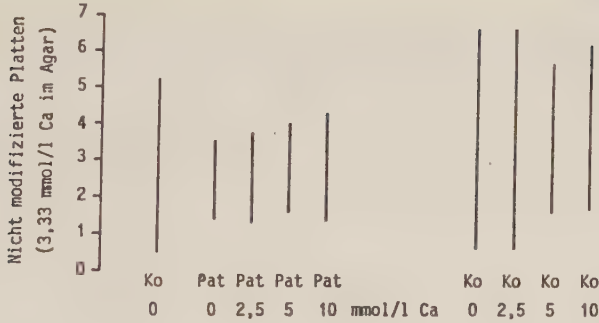


Abb. 5 - Modifizierte Granulozytenchemotaxis von Patient und Kontrolle. Das obere Ende der senkrechten Linien stellt die gerichtete Zellwanderung unter den jeweiligen Bedingungen dar, das untere Ende die ungerichtete. Die Länge der Linien entspricht der Chemotaxis. Es wurden die Werte aus Tab. 31 verwendet. Die Versuchsbedingungen sind in Kap. 5.1.1 beschrieben. Ko Kontrolle; Pat Patient.

Die Ergebnisse von Tabelle 31 lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- I Die Zellen des Patienten zeigen ein steigendes A bei steigendem Kalzium. (3,5/3,7/4,0/4,3). B ist bei allen Ca-Konzentrationen eher hoch (1,3 - 1,6). Es resultiert eine gegenüber der Kontrolle deutlich erniedrigte, bei höherem Kalzium leicht ansteigende Chemotaxis.
- II Die Zellen der Kontrollperson werden durch Zugabe von Kalzium in die Suspension negativ beeinflusst: A scheint bei höheren Ca-Konzentrationen abzunehmen, B dagegen eher zuzunehmen (1,6 - 1,7 versus 0,6). Die leichte Verminderung der Chemotaxis (A - B) bei höherer Kalziumkonzentration wird durch die Zunahme der ungerichteten (B) bei Abnahme der gerichteten (A) Bewegung verursacht.
- III Bei Patienten nehmen A und B mit zunehmender 1,25(OH)D-Konzentration ab. Wieder zeigt sich gegenüber Platte IV, daß B größer und die Chemotaxis kleiner als bei der Kontrolle ist.
- IV Die Zugabe der niedrigen (10^{-8} M), physiologischen 1,25(OH)D-Konzentration beeinflusst bei den Kontrollzellen weder A noch B. Bei den höheren Konzentrationen nimmt A ab und B zu, so daß eine deutlich erniedrigte Chemotaxis resultiert.

Kalziumangereicherte Platten

- V Auf der kalziumangereicherten Platte im Verein mit den niedrigeren 1,25(OH)D-Zugaben erreicht die Chemotaxis des Patienten fast die Kontrolle (3,5 und 4,0 versus 4,1).
- VI Wie bei dem Patienten (V) zeigt sich auch bei der Kontrolle bei der höchsten 1,25(OH)D-Konzentration eine starke Hemmung der Chemotaxis. Hier scheint die Kombination von Ca und 1,25(OH)D einen toxischen Effekt auf die Zellen zu haben. Auch bei der Zugabe von Kalzium in die Platte und in die Suspension (VI Pat Ca 1) scheint ein toxischer Effekt vorzuliegen.

5.2 Interleukinsynthese von Patientenzellen in vitro

5.2.1 Methoden

Zur Bestimmung der Interleukinaktivität werden die entsprechenden Zellen (Monozyten für IL-1; Lymphozyten für IL-2) des Probanden isoliert und in vitro durch Zugaben geeigneter Faktoren wie Mitogene oder Bakterien zur Interleukinproduktion angeregt. Die dabei gewonnenen interleukinhaltigen Kulturüberstände werden mit spezifischen Indikatorzellen inkubiert, die durch IL konzentrationsabhängig zur Proliferation angeregt werden. Die Proliferationsrate wird durch den Einbau von tritiummarkiertem Thymidin in die DNS bestimmt.

Zum Zeitpunkt der Blutentnahme war der Patient infektfrei und erhielt keine antiinfektiöse und immunsuppressive Therapie.

Das Heparinblut wurde unter sterilen Kautelen abgenommen und per Expresß an das immunologische Labor der Universität Ulm versandt.

Die Untersuchungen wurden dort etwa 24 bis 48 Stunden nach der Entnahme von Dr. Kabelitz und Dr. Fleischner durchgeführt.

Interleukin 2

Die Lymphozyten wurden durch Zentrifugation über einen Ficoll-Hypaque-Gradienten gewonnen und einmal mit RPMI-1640-Medium gewaschen.

Die Lymphozyten wurden in RPMI-1640-Medium eingebracht, das 5 % fetales Kälberserum enthält. Die optimale Zellkonzentration von $4-5 \times 10^6/\text{ml}$ wurde eingestellt. Es wurde 10 µg/ml Phythämagglutinin (Wellcome reagent grade) zugegeben. 24 Stunden später wurden die Überstände gewonnen.

Die Überstände wurden jeweils 1:1 verdünnt, so daß der Überstand in Konzentrationen von 50 %, 25 %, 12 %, 6 %, 3 %, 1,5 % und 0,7 % vorlag.

Jeweils 50 μ l dieser Verdünnungen und eine negative Kontrolle (50 μ l RPMI allein) wurden auf Mikrotiterplatten pipettiert.

Zur Kontrolle wurden auf der gleichen Platte die o. g. Verdünnungen eines Interleukin 2-Standards (50 U/ml) und des Überstandes von Lymphozyten eines gesunden Probanden aufgebracht.

Alle Ansätze erfolgten dreifach.

Zu allen Ansätzen wurden jeweils 50 μ l Zellsuspension (siehe unten) zugegeben. Nach 18 Stunden Inkubation wurden jeweils 0,5 μ Ci 3 H-Thymidin zugegeben und die Ansätze nochmals für 5 Stunden inkubiert.

Die Zellkerne der einzelnen Ansätze wurden mit Glasfibrfiltern geerntet, die Radioaktivität des inkorporierten tritiummarkierten Thymidins im Flüssigkeitsszintillationszähler gemessen und in counts per minute (cpm) angegeben.

Zur Bestimmung von IL-2-Aktivität werden vorwiegend IL-2-abhängige Zelllinien verwendet, die käuflich zu erwerben sind:

Milzzellen von Ratten oder Mäusen werden mit Lektinen und/oder Antigenen stimuliert und anschließend in Langzeitkulturen regelmäßig mit IL-2 gefüttert. Nach mehreren Wochen werden die Zellen geklont und aufgrund ihrer Ansprechbarkeit auf IL-2 selektiert. Nach einigen Selektionsschritten erhält man Zelllinien, deren Proliferation vollkommen IL-2-abhängig geworden ist. Die Zellen lassen sich anfangs als zytotoxische T-Zellen identifizieren, verlieren aber im weiteren einige ihrer typischen Eigenschaften wie Antigenspezifität.

Bei unseren Bestimmungen wurden Interleukin-2-abhängige, zytotoxische T-Zelllinien Typ L (CTLL) verwendet.

Die Zellen wurden unmittelbar vor der Bestimmung 6 x in RPMI-1640-Medium gewaschen und auf 2×10^5 Zellen pro ml RPMI eingestellt. Jeweils 50 μ l der Zellsuspension wurde zu den Ansätzen zugegeben.

Interleukin 1

Durch Zentrifugieren über einen Ficoll/Hypaque-Gradienten wurden mononukleäre Zellen aus dem Patientenblut gewonnen. Die darin enthaltenen Monozyten wurden durch Adhäsion an Plastik für 45 min angereichert.

Als Medium diente RMPI-1640 mit 5 % fetalem Kälberserum (FCS): Eine Konzentration von 10^6 Zellen pro ml Medium wurde eingestellt.

Als Stimulus der IL-1-Produktion wurden 10 µg/ml LPS, einem bakteriellen Endotoxin zugegeben. 36 Stunden später wurden die Kulturüberstände gewonnen. Die Bestimmung der in den Kulturüberständen vorhandenen IL-1-Konzentration erfolgte ähnlich wie bei IL-2. Die Überstände vom Patienten und einer Kontrolle wurden in steigenden Verdünnungen (50 %, 25 %, 12 %, 6 %, 3 % und 1,5 %) jeweils dreifach auf eine Mikrotiterplatte pipettiert. Als Indikatorzellen wurden Mäusethymozyten verwendet. Unter aseptischen Bedingungen wurde der Thymus entnommen, zerkleinert, dreimal gewaschen und zentrifugiert. Die dabei gewonnenen Zellen wurden auf 10^6 pro ml Medium (RMPI-1640 mit 5 % FCS und 0,025 µM 2-Merkaptoäthanol) eingestellt.

150 µl Thymozytensuspension und 50 µl der jeweiligen Verdünnung der Kulturüberstände wurden in die Vertiefungen der Platte pipettiert. Nach einer Inkubation von 72 Stunden wurde 0,5 µCi H^3 -Thymidin pro Ansatz zugegeben. 12 Stunden später wurde die Aktivität (counts per minute-cpm) des in die Zellkerne inkorporierten tritiummarkierten Thymidins gemessen. Die Einbaurate ist dann ein Indikator für die IL-1-Konzentration in den Kulturüberständen.

5.2.2 Ergebnisse

Aus den Tabellen 32 und 33 geht hervor, daß die Interleukin 1- und 2-Produktion der Patientenzellen in vitro in der Größenordnung der Kontrollen liegt.

Tabelle 32: Interleukin-2-Produktion in vitro

Gezeigt wird der Einbau von tritiummarkiertem Thymidin in die Indikatorzellen, gemessen als counts per minute. Die Werte des Patienten werden mit denen eines gesunden Probanden (Kontrolle) und einer Standardlösung mit 50 U/ml IL-2-Aktivität verglichen.

Als Verdünnungsfaktor ist der prozentuale Anteil der Ausgangslösung (Überstand der Zellkulturen bzw. der IL-2-Standardlösung) angegeben, der zur Inkubation der Indikatorzellen verwendet wurde.

Verdünnung	Patient	Kontrolle	Standard
50 %	41.970	41.823	47.817
25 %	30.014	34.639	49.911
12 %	26.297	29.741	38.694
6 %	19.074	21.017	33.900
3 %	9.147	16.432	24.170
1,5 %	8.009	9.429	17.001
0,7 %	3.017	2.017	8.697
Leerwert 0 %	944	867	1.005

Tabelle 33: Interleukin-1-Produktion in vitro

Gezeigt wird der Einbau von tritiummarkiertem Thymidin in die Indikatorzellen (Mäusethymozyten), gemessen als counts per minute. Die Werte des Patienten werden mit denen eines gesunden Probanden (Kontrolle) verglichen.

Als Verdünnungsfaktor ist der prozentuale Anteil der jeweiligen Ausgangslösung (Überstand der Zellkulturen) angegeben, der zur Inkubation der Indikatorzellen verwendet wurde.

Verdünnung	Patient	Kontrolle
50 %	4.811	6.345
25 %	4.229	5.621
12 %	2.919	4.221
6 %	2.167	2.810
3 %	2.000	1.974
1,5 %	1.017	432
Leerwert 0 %	299	259

5.3 Differenzierung von Knochenmarksstammzellen (CFU-GEMM)

5.3.1 Methoden

Aspirat der Beckenkammnadelbiopsie im November 1984 wurde für Knochenmarksstammzellkulturen verwendet. Die Entnahme erfolgte bei Infektfreiheit; es wurde keine antiinfektiöse oder immunsuppressive Therapie durchgeführt.

Die Untersuchung wurde von PD Dr. Gerhardt, Universitätsklinikum Großhadern durchgeführt.

Die CFU-GEMM-(Colony Forming Units-Granulocytic, Erythroid, Monocyte-Macrophage, Megakaryocytic Elements)-Kulturen wurden nach der Methode von FAUSER et al. 1978, modifiziert nach ASH et al. 1981, durchgeführt. Die mononukleären Zellen (MNC) des Aspirats wurden mit einem Ficoll-Hypaque-Gradienten von den anderen Zellen getrennt. Das Aspirat enthielt insgesamt $5,9 \times 10^6$ MNC. Die MNC wurden dreimal gewaschen, gezählt und in Dulbecco's medium, nach Iscove modifiziert und mit 20 % fetalem Kälberserum (FCS) bei 4° bis zur Verarbeitung aufbewahrt.

Konditioniertes Medium (PHA-LCM) wurde hergestellt, indem Leukozyten aus dem peripheren Blut von Gesunden 7 Tage mit 1 % Phytohämagglutinin (PHA) inkubiert wurden. Es konnte gezeigt werden, daß die wachstumsfördernde Wirkung nicht vom PHA allein, sondern von Substanzen abhängt, die während der Inkubationszeit von den Zellen produziert werden (ASH et al. 1981). Es liegt nahe, daß es sich dabei um Lymphokine wie IL 2 handelt.

Das Kulturmedium enthielt Dulbecco's Medium, nach Iscove modifiziert, 30 % FCS, 0,99 % Methylcellulose, 5 % PHA-LCM und 1 IU Erythropoetin-Platte. Die Zellzahl wurde auf 25.000/Kultur eingestellt.

Zusätzlich wurden weitere Kulturen unseres Patienten mit verschiedenen Konzentrationen von 25(OH)D (10^{-7} - 10^{-5} M) und 1,25(OH)D (10^{-8} - 10^{-6} M) angesetzt.

Die Kulturen wurden nach 7 und 14 Tagen gezählt und differenziert.

5.3.2 Ergebnisse

Nach 7 Tagen waren keine Kolonien gewachsen.

Nach 14 Tagen war dann geringes Wachstum sichtbar (siehe Tabelle 34). Normalbefunde von Knochenmarkaspiraten zeigen ein Wachstum in der Größenordnung von 100 und mehr Kulturen.

Werte wie bei unserem Patienten werden in peripherem Blut gefunden, das - in geringem Ausmaß - Stammzellen enthält.

Tabelle 34: Ergebnisse der Stammzellkulturen nach 14 Tagen ohne und mit Inkubation von verschiedener Konzentration von 25(OH)D oder 1,25(OH)D

Die gewachsenen Zellen wurden unterteilt in Granulozyten und Monozyten/Makrophagen (GM), erythropoetische Zellen (burst), gemischte (gem) und undifferenzierte (undiff) sowie in Kolonien (col) und Kluster (clu). Die angegebenen Werte beziehen sich auf 25.000 mononukleäre Zellen pro Kultur. Als Kontrolle dienten Patienten-MNC ohne Kalziferolinkubation.

			GMclu	GMcol	burstclu	burstcol	gem	undiff	ges
Kontrolle			5	1	3	0	3	1	14
1,25(OH)D	10 ⁻⁸	M	4	1	2	3	1	0	11
	10 ⁻⁷	M	1	2	3	1	3	2	12
	10 ⁻⁶	M	6	1	0	4	4	1	16
25(OH)D	10 ⁻⁷	M	0	0	0	0	0	0	0
	10 ⁻⁶	M	0	0	0	0	0	0	0
	10 ⁻⁵	M	0	0	0	0	0	0	0

5.4 Knochendichtemessung mit dualer Gadolinium¹⁵³-Photonenabsorptiometrie

5.4.1 Methoden

Gadolinium¹⁵³ sendet Gammastrahlen mit zwei verschiedenen Energien, 44 und 100 keV aus. Diese weisen ein unterschiedliches Absorptionsverhalten in Knochen- und Weichteilgeweben auf. Die 44 keV-Photonen werden in Weichteilgewebe und Fett 1,28 bis 1,44 mal, in Knochen aber 4,68 mal mehr absorbiert als die 100 keV-Photonen. Durch einen Vergleich der Signalabschwächung kann die Knochendichte errechnet werden.

Die Messungen an unserem Patienten wurden in der nuklearmedizinischen Abteilung des Universitätsklinikums Rechts der Isar, Prof. Dr. Buttermann, mit einem BMC-LAB 22a der Firma Novo, Dänemark durchgeführt.

Gadolinium¹⁵³ wird mit einer Aktivität von 1,0 Ci geliefert. Es hat eine Halbwertszeit von 242 Tagen und kann bis zu 2 Jahren zu Messungen verwendet werden.

Die Strahlungsquelle ist in Blei und Aluminium eingekapselt. Der Nutzstrahl ist gebündelt, bei Messungen an Erwachsenen beträgt sein Durchmesser beim Passieren der Wirbelsäule 6 mm. Für die Messung an Kindern wird der Strahl noch stärker kollimiert, damit die Auflösung zur Abgrenzung der Wirbelkörper höher und die Strahlenbelastung geringer wird.

Der Patient liegt mit gebeugter Hüfte auf dem Rücken, um die Lendenlordose so gering wie möglich zu machen. Die Strahlungsquelle (unter dem Patienten) und das Zweikanalmeßgerät (darüber) fährt in transversalen Parallelen mit 4 mm Abstand über die gesamte Lendenwirbelsäule. Eine Messung dauert etwa 15 Minuten. Das Zweikanalmeßgerät befindet sich in einem Abstand von 30 cm über der Strahlungsquelle und bestimmt getrennt die durch den Körper hindurchgetretene Strahlung der 44 und 100 keV-Photonen.

Die Daten werden an einen Rechner weitergeleitet. Dieser gibt zunächst eine Abbildung der Lendenwirbelsäule aus. Der Untersucher grenzt darauf die Wirbelkörper L2 - L4 ab. Anhand dieser Angabe berechnet der Computer den gesamten Mineralgehalt der drei Wirbelkörper (BMC absolut) und den Mineralgehalt pro Zentimeter Wirbelsäule (L2 - L4), den sogenannten linearen Mittelwert.

Vor Beginn der eigentlichen Messung wird bei jeder Untersuchung der individuelle Leerwert bestimmt, ein Maß für die Dicke des über und unter der Wirbelsäule liegenden Weichteilmantels.

Die Meßapparatur ist so geeicht, daß bei Erwachsenen der Mineralgehalt in Gramm Hydroxylapatit angegeben wird. Durch die stärkere Kollimierung des Meßstrahls bei Kindern wird diese Eichung außer Kraft gesetzt. Der BMC wird deshalb in Units (U) angegeben.

Weitere Details über Meßtechnik, Berechnungsverfahren und Präzision der Methode können der ausführlichen Arbeit von KRØLNER et al. 1980 entnommen werden.

Strahlenbelastung

Die Gonadenbelastung von erwachsenen Frauen durch eine komplette Untersuchung der LWS liegt zwischen 0,5 und 1,4 mrem (KRØLNER et al. 1980). Die Gonadenbelastung bei Männern ist wesentlich geringer, da die Hoden außerhalb des Meßbereichs liegen; exakte Zahlenangaben liegen nicht vor. Wenn man aber bedenkt, daß eine seitliche Röntgenaufnahme der LWS eine Gonadenbelastung von etwa 130 mrem bewirkt (LISSNER et al. 1980), wird deutlich, daß die Photonenabsorptiometrie die Methode der Wahl für Knochendichtemessungen ist, da sie auf der einen Seite eine hundertmal geringere Strahlenexposition bedeutet und auf der anderen eine exakt quantifizierbare Aussage ermöglicht.

Die Belastung der Haut beträgt etwa 10 mrem, die Knochenmarkdosis 5 mrem pro Untersuchung (Angaben der Firma Novo, Dänemark).

5.4.2 Ergebnisse

Der Leerwert unseres Patienten lag bei den verschiedenen Messungen bei 8 bis 14 cm Weichteilgewebe und entsprach damit gut den tatsächlichen anatomischen Verhältnissen.

Die Ergebnisse der vier Messungen sind in Tabelle 35 zusammengestellt. Der prozentuale Zuwachs der Knochendichte wird pro Woche angegeben, da die Abstände zwischen den einzelnen Untersuchungen zwischen 10 und 25 Wochen schwanken.

Es liegen für die Messung von BMC mit Gadolinium¹⁵³ keine Normalwerte für Kinder vor. Die Methode wird bis heute nur bei Erwachsenen in einigen Zentren routinemäßig angewandt. Obwohl die Strahlenbelastung wesentlich geringer als bei einer LWS-Röntgenaufnahme ist, verbietet es sich von selbst, ein Kollektiv von gesunden Kindern ohne diagnostische Indikation nur zur Erstellung von Normalwerten zu untersuchen. So können wir nur auf eine Einzeluntersuchung aus dem Klinikum Rechts der Isar hinweisen, die aus diagnostischer Indikation an einem 15 Monate alten Kind mit vermutlich normaler Mineralisation durchgeführt wurde (persönliche Mitteilung). Dabei wurde ein linearer Mittelwert von 1,30 U/cm gemessen. Mit 26 Monaten zeigte unser Patient nur 40 % dieses Wertes, zwölf Monate später lag er immerhin 27 % darüber. Dabei ist aber der Altersunterschied zu beachten, so daß unser Patient trotz erheblicher Besserung mit der Skelettmineralisation fast zwei Jahre im Rückstand liegt.

Insgesamt erhöht sich der absolute BMC innerhalb eines Jahres auf das 4,04fache, der lineare Mittelwert auf das 3,17fache.

Tabelle 35: Verlauf der Knochendichte des Patienten

Angegeben ist der Gesamtmineralgehalt von L2 - L4 (BMC absolut) und der mittlere Mineralgehalt pro cm Lendenwirbelsäule (lineares Mittel). In Klammer folgt der prozentuale Zuwachs gegenüber der jeweiligen Voruntersuchung; die Zuwachsrate ist pro Woche angegeben, da die Intervalle zwischen den Untersuchungen unterschiedlich lang sind. Die Untersuchungen fanden 6 Wochen nach Beginn der Kalziumdauerinfusion (1), an ihrem Ende (2), nach 6 Monaten ohne Infusion (3) und nach 3 Monaten intermittierender Infusionstherapie statt (4). Der zeitliche Abstand zur vorhergehenden Untersuchung ist als Intervall angegeben.

		1	2	3	4
Intervall			10 Wochen	25 Wochen	16 Wochen
BMC absolut (U)	2,28	3,74	(+6,4 %)	5,95 (+2,4 %)	9,23 (+3,1 %)
Lin. Mittel (U/cm)	0,52	0,84	(+6,3 %)	1,65 (+2,5 %)	1,65 (+2,5 %)

5.5 Intestinale Kalziumabsorption mit stabilen Isotopen

5.5.1 Methoden

Natürliches Kalzium setzt sich aus Kalziumatomen unterschiedlicher Masse zusammen, die als stabile Kalziumisotope bezeichnet werden. Der Anteil der einzelnen Isotope am Gesamtkalzium ist überaus konstant (Tabelle 36). Nach Applikation eines Isotops in hochangereicherter Form ändert sich im Organismus das Verhältnis dieses Isotops zu einem Referenzisotop. Aufgrund dieser Änderungen kann die Verteilung des Elements in die verschiedenen Kompartimente und deren Dynamik berechnet werden.

Tabelle 36: Anteil der stabilen Kalziumisotope am natürlichen Kalzium in Prozent (nach MOORE et al. 1985)

^{40}Ca	96,94 %
^{44}Ca	2,09 %
^{42}Ca	0,65 %
^{48}Ca	0,19 %
^{43}Ca	0,13 %
^{46}Ca	0,003 %

Der Patient erhielt die letzte Kalziuminfusion mindestens 24 Stunden vor der Isotopenapplikation und keine Nahrung 12 Stunden vor und 4 Stunden nach der Isotopengabe. In diesem Zeitraum waren nur kalziumarme Getränke erlaubt. Die Isotope wurden oral bzw. intravenös verabreicht. In den folgenden 24 Stunden wurde mehrmals 1 ml Heparinblut abgenommen, das Plasma abzentrifugiert und an das Zentrum der Kinderheilkunde im Klinikum der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität Frankfurt verschickt. Die Messungen wurden von Prof. Dr. G. Wilhelm, Abteilung für metabolische Störungen, durchgeführt.

Das Patientenserum wurde auf eine Chromatographiesäule mit an Polyakrylamidgel gekoppeltem, kalziumbindenden Parval-

bumin aufgebracht. Die nicht von Parvalbumin gebundenen Plasmapbestandteile wurden mit einer alkalischen Lösung ausgewaschen, und danach die Bindung von Kalzium an Parvalbumin mit einer sauren Lösung gelöst. Die Probe wurde dann unter Druck mit Salpetersäure verascht, getrocknet und als wässrige Lösung in einen Thermionen-Massenspektrometer eingebracht.

Bei der Thermionen-Massenspektrometrie werden Atome und Moleküle einer Probe ionisiert und verdampft und dann nach ihren Massen sortiert. Unter der Voraussetzung, daß die Probe nur Isotope eines Elements enthält, sind die Zählraten pro Zeiteinheit bei den einzelnen Massen ein Maß für Isotopenmengen.

Die Verteilungsmenge, d. h. die Menge an natürlichem Kalzium, in dem sich das angereicherte Isotop verteilt hat, läßt sich aus folgenden Daten berechnen:

- Mengenverhältnis der Isotopen im natürlichen Kalzium
- Mengenverhältnis der Isotopen im Patientenplasma nach Isotopengabe
- applizierte Tracermengen (Menge des angereicherten Isotops)

Durch mehrere Messungen in zeitlicher Folge läßt sich zum einen über den Vergleich der maximalen Tracerkonzentrationen parenteraler und oraler Herkunft die intestinale Absorptionsrate bestimmen, zum anderen durch die Geschwindigkeit des darauffolgenden Abfalls der Tracerkonzentrationen der Kalziumumsatz.

Einzelheiten über Meß- und Berechnungsmethoden finden sich in einer Publikation der Arbeitsgruppe um Prof. Wilhelm (FLOREN et al., in Vorbereitung).

Ende Juli 1985, vor Beginn einer 14tägigen Kalziuminfusion von 920 mg/d, erhielt der Patient 1,5 mg ^{42}Ca in gepufferter isotonischer Kochsalzlösung. Blutentnahmen erfolgten nach 30 Minuten, 1, 2, 4, 6 und 24 Stunden.

Im August 1985, nach der Kalziuminfusion, erhielt der Patient gleichzeitig 1,5 mg ^{42}Ca in gepufferter isotonischer Kochsalzlösung intravenös und 1 mg ^{48}Ca als Kalziumchlorid mit 92 mg Kalzium als Glukonat-/Saccharatlösung per os. Die Blutentnahmen erfolgten kurz vor, 30 Minuten, 2, 6 und 24 Stunden nach Isotopenapplikation.

Im November 1985 erhielt der Patient 4,5 mg ^{42}Ca als Kalziumchlorid mit einer Brausetablette (500 mg Kalzium als Laktoglukonat/Karbonat) per os. Die Blutentnahmen erfolgten kurz vor, 30 Minuten, 2, 6 und 24 Stunden nach Isotopengabe. Im Plasma, das jeweils vor Versuchsbeginn abgenommen wurde, fand sich ein Mengenverhältnis identisch mit dem von natürlichem Kalzium, so daß eine Beeinflussung des nachfolgenden Tests durch die Isotopengabe des vorhergehenden ausgeschlossen werden konnte.

5.5.2 Ergebnisse

Aus den Meßwerten des Patienten wurden von Prof. Wilhelm und Mitarbeitern folgende intestinale Absorptionsraten errechnet:

Von den 93 mg Kalzium im August 1985 wurden 50 % im Intestinum absorbiert. Die Meßgenauigkeit betrug ± 5 %, der Normalwert für eine solche Kalziumdosis liegt bei Erwachsenen zwischen 25 und 40 %, für Kleinkinder wurden noch keine Normalwerte erstellt.

Von den 505 mg Kalzium im November 1985 wurden 5 % absorbiert. Die Meßgenauigkeit betrug wiederum ± 5 %. Der Normalwert für die Absorption einer entsprechenden Dosis bei Erwachsenen liegt bei 15 bis 35 %.

5.6 Fibroblastenkulturen

5.6.1 Methoden

Zellen und Zellkultur

Eine Hautbiopsie von etwa 4 mm Durchmesser wurde unter Lokalanästhesie und sterilen Kautelen vom Unterarm des Patienten gewonnen. Die Wunde wurde mit Fibrinkleber verschlossen.

Die Biopsie wurde zerkleinert und in eine Petrischale mit 5 ml Medium A gegeben. Medium A enthielt improved Eagle's Minimal Essential Medium (Fa. Flow), 10 % FCS (Fa. Gibco), 10^{-7} M Insulin, 584 mg/l Glutamin, 100 U/l Penicillin, 100 µg/l Streptomycin und 2 mg/ml Kollagenase (Fa. Sigma). Das Material wurde auf mehrere Kulturflaschen verteilt. 24 Stunden später wurde das Kulturmedium durch frisches Medium A ohne Kollagenase ersetzt.

Mit frischem Medium versetzt wurde die Fibroblastenzellkultur zu Dr. S. J. Marx an das National Institute of Health in Bethesda, Maryland USA, verschickt, der alle folgenden Untersuchungen durchführte. Die Versuche wurden mit Zellen aus den Passagen 4 bis 20 durchgeführt.

Rezeptorbindung im Zytosol

48 und 24 Stunden vor der Ernte wurden die Zellen in Medium A ohne FCS gegeben. Die Zellen wurden geerntet, gewaschen und auf $3 - 6 \times 10^6$ /ml in Puffer A (10 mM Tris-HCl, 300 mM KCl, 10 mM Natriummolybdat, 1,5 mM EDTA, 1,0 mM Dithiothreitol und Aprotinin mit 500 U/l Kallikrein Inaktivator) eingestellt. Die Zellen in der Suspension wurden mit Sonikatorimpulsen zertrümmert und 1 Stunde mit 100 000 g zentrifugiert. Der gewonnene Überstand wird im weiteren als Zytosol bezeichnet.

Das Zytosol wurde zur Untersuchung spezifischer Bindung hoher Affinität mit tritiummarkiertem 1,25(OH)D in Konzentrationen von 0,05 bis 5 nM für 15 Stunden inkubiert. Die spezifische Bindung mit niedriger Affinität wurde bei

^3H -1,25(OH)D-Konzentration bis 9 nM und gleicher Inkubationsdauer untersucht. Unspezifische Bindung wurde durch Koinkubation mit 1 μM unmarkiertem 1,25(OH)D untersucht.

Das Vorhandensein von spezifischer Bindung wurde nach der Methode von SCATCHARD 1949 analysiert. Eine spezifische, sättigbare Bindung wurde angenommen, wenn die Regressionsanalyse von gebundenem und ungebundenem 1,25(OH)D auf einem Konfidenzniveau von 95 % eine einzige Klasse von Bindungsstellen zeigte.

24-OHase-Induktion

In Zellkulturen mit Medium A wurde in Äthanol gelöstes 1,25(OH)D zugegeben, so daß Endkonzentrationen von 0,1 bis 1000 nM 1,25(OH)D entstanden. Nach 15 Stunden wurden die Zellen geerntet. 30 und 60 Minuten vor der Ernte wurde das 1,25(OH)D-haltige Medium A durch Vitamin D-freies ersetzt. Diese Auswaschprozedur soll verhindern, daß 1,25(OH)D als mögliches konkurrierendes Substrat für die 24-OHase im Ansatz verbleibt. Nach der Ernte wurden die Zellen gewaschen, zentrifugiert und in Medium A mit 1 % FCS auf $5 \cdot 10^6$ Zellen pro ml eingestellt.

Die Aktivität der 24-OHase wird durch Messung von tritiummarkiertem 24,25(OH)D nach Inkubation mit tritiummarkiertem 25(OH)D bestimmt. 100 pmol H^3 -25(OH)D, mit einer spezifischen Aktivität von 1,1 Ci/mmol in Äthanol gelöst, wurde in die Testgefäße eingebracht, der Alkohol verdunstet. Die Zellsuspension wurde dann zugegeben und für 30 Minuten bei 37 ° inkubiert. Dann wurde Methanol-Chloroform (2:1) und je 150 pmol 25(OH)D, 24,25(OH)D und 1,25(OH)D als Referenzstandard zugegeben.

Die Kalziferole wurden mit Polypropylen nach der Methode von BLIGH et al. 1959 extrahiert und unter N_2 getrocknet. 24,25(OH)D wurde in einem Hochdruckflüssigkeitschromatographiesystem (HPLC) identifiziert. Als Lösungsmittel wurde Hexan/Isopropanol (92:8) verwendet.

Bei allen drei Experimenten wurde die Radioaktivität in einem Flüssigkeitsszintillationszähler gemessen.

5.6.2 Ergebnisse

Rezeptorbindung im Zytosol

Im Zytosol der Fibroblasten unseres Patienten war keine spezifische Bindung von 1,25(OH)D mit hoher Affinität nachweisbar. Fibroblasten von gesunden Kontrollpersonen ($n = 5$) zeigten im Zytosol eine spezifische Bindung von 1,25(OH)D mit einer Affinität von $0,13 \pm 0,02$ nM und einer Kapazität von 35 ± 2 fmol pro mg Protein. Die Ergebnisse von Patient und Kontrollen sind in Abb. 6 a und b graphisch dargestellt.

Eine spezifische Bindung von 1,25(OH)D mit niedriger Affinität war im Zytosol des Patienten ebenfalls nicht nachweisbar (Daten nicht gezeigt).

24-OHase-Induktion

Die untere Nachweisgrenze des Tests für die Enzymaktivität liegt bei $0,2$ pmol pro 30 Minuten und 10^6 Zellen.

Nach Präinkubation mit Äthanol allein ohne 1,25(OH)D war keine 24-OHase-Aktivität in Zellen gesunder Probanden meßbar.

In den Fibroblasten aller gesunder Probanden war bei Präinkubation mit 1 nM 1,25(OH)D 24-OHase-Aktivität meßbar ($1,5$ bis $4,5$ pmol/20 min und 10^6 Zellen). Sie erreichte $8,8 \pm 1,6$ pmol/30 min und 10^6 Zellen ($n = 10$) bei 10 nM 1,25(OH)D-Präinkubation (Abb. 7 a).

Bei unserem Patienten wurde der 24-OHase-Test zweimal durchgeführt. Im ersten Test konnte nur bei Präinkubation mit 100 nM 1,25(OH)D mit einer 24-OHase-Aktivität von $0,13$ pmol/30 min und 10^6 Zellen ein Wert an der unteren Nachweisgrenze gefunden werden. Die übrigen Präinkubationen von 1 bis 1000 nM 1,25(OH)D führten zu keiner meßbaren Enzyminduktion. Im zweiten Test war in keinem Ansatz eine Enzymaktivität meßbar (siehe Abb. 7 b).

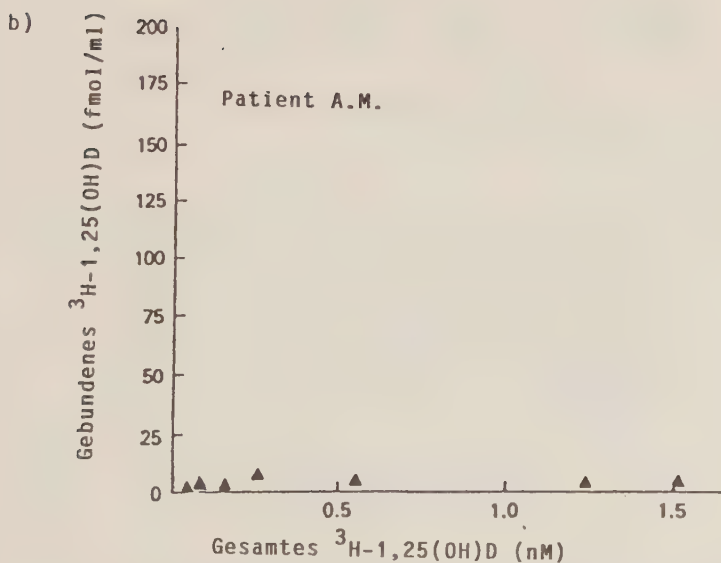
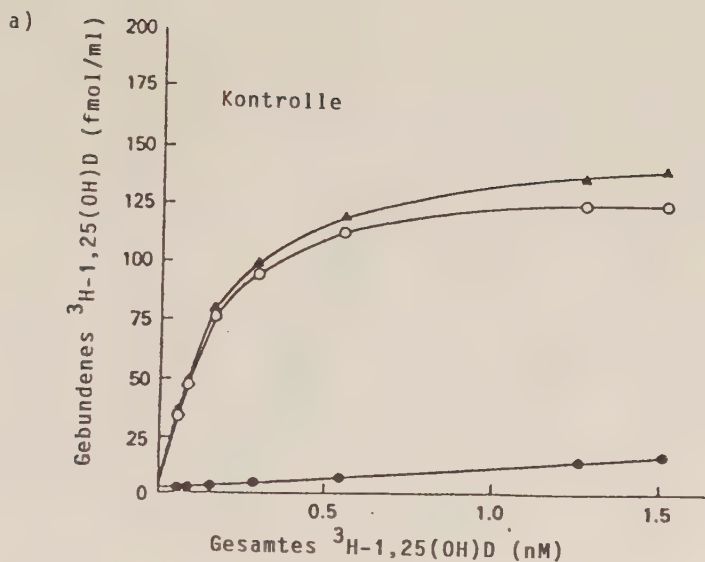


Abb. 6 - Dosisabhängige Bindung von ^3H -1,25(OH)D im Zytosol von Fibroblasten in vitro.

a) Kontrolle: ○ spezifische, ● unspezifische, ▲ gesamte Bindung

b) Patient: ▲ gesamte Bindung
Daten von Dr. Marx, NIH, USA

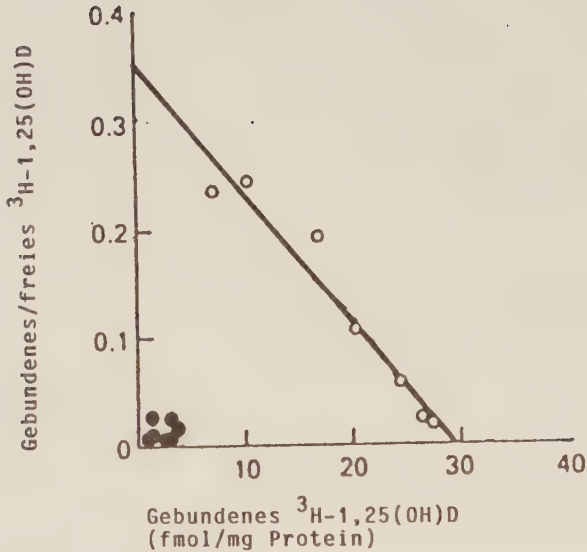


Abb. 6c - Darstellung der Bindung von ^3H -1,25(OH)D mit dem Zytosol von Hautfibroblasten nach Scatchard.
○ Spezifische Bindung einer Kontrolle mit einer Affinität von 0,11 nM und einer Kapazität von 33 fmol/mg Protein; $r = -0,97$.
● Unspezifische Bindung des Patienten mit $|r| < 0,80$.
Es wurden die Daten von Abb. 6a und b verwendet.

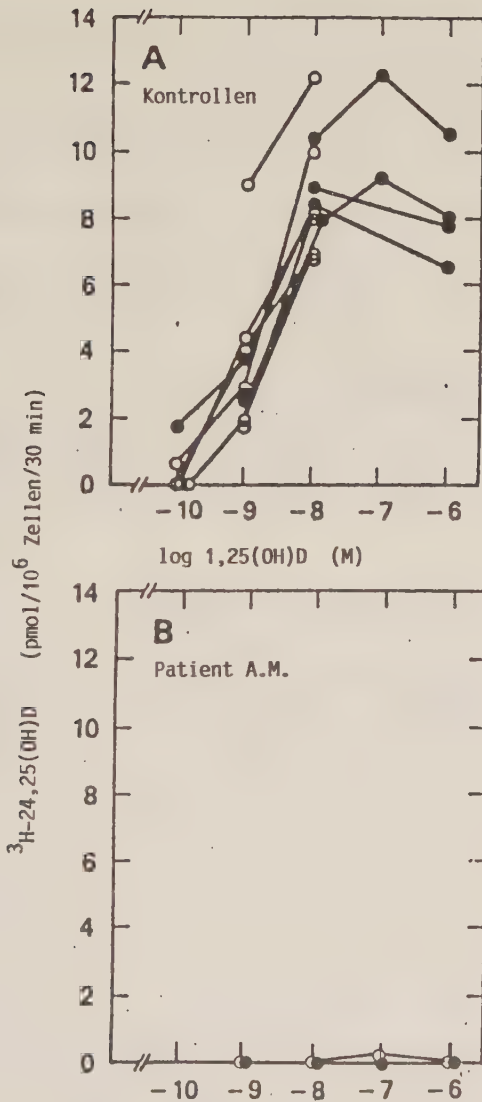


Abb. 7 - Bildung von $^3\text{H-24,25(OH)D}$ in Hautfibroblasten nach Präinkubation mit verschiedenen Konzentrationen von $1,25(\text{OH})\text{D}$ für 15 Stunden.
A Werte gesunder Kontrollen
B Werte des Patienten A. M. (Zwei Untersuchungen)
Daten Dr. Marx, NIH, USA

6.-9. DISKUSSION

6. Differentialdiagnose des Patienten

Zu Beginn standen folgende diagnostische Fragen im Mittelpunkt unseres Interesses:

- Welcher Art ist die Erkrankung des Kalzium-Phosphat-Stoffwechsels?
- Was ist die Ursache des pathologischen roten und weißen Blutbildes?
- Was liegt der Hepatosplenomegalie zugrunde?
- Sind die obengenannten pathologischen Befunde Symptome verschiedener, nur zufällig zusammentreffender Krankheitsbilder oder bestehen zwischen ihnen kausale Zusammenhänge?

6.1 Skelett/Mineralstoffwechsel - VDAR II

Hinsichtlich des Skelettsystems schieden die anlagebedingten Systemerkrankungen aus den Formenkreisen der Chondrodystrophien oder der Knochendysplasien aufgrund des klinischen Bildes von vornherein aus. Die Osteopetrose, die ja bei schwerem klinischen Verlauf mit Einschränkung der Knochenmarkshämatopoese und extramedullärer Blutbildung einhergeht, konnte radiologisch ausgeschlossen werden. Damit konzentrierten sich die diagnostischen Erwägungen auf den rachitischen Formenkreis.

Es lagen bei Aufnahme des Patienten typische Befunde einer Rachitis vor: Eine wenn auch geringgradige Hypokalzämie, ein ausgeprägter Hyperparathyreoidismus, eine dadurch verursachte Hypophosphatämie und eine stark erhöhte alkalische Phosphatase.

Bei der Vitamin D-Mangelrachitis kann man den Verlauf zwischen zwei Polen einordnen: Bei dem einen steht die Hypokalzämie mit ihren typischen Symptomen, die bis zur Tetanie reichen, im Vordergrund, während demgegenüber Parat-

hormonerhöhung und Entmineralisierung der Knochen wenig ausgeprägt sind. Es kann aber auch die umgekehrte Situation eintreten, daß durch stark erhöhte Parathormonspiegel und extreme Skelettdemineralisation noch bei sehr weit fortgeschrittener Rachitis fast normale Serumkalziumwerte aufrecht erhalten werden können. Letzteres scheint bei unserem Patienten der Fall gewesen zu sein.

Der rachitische Formenkreis umfaßt eine Reihe ätiologisch unterschiedlicher Erkrankungen:

Die rachitischen Erkrankungen, die auf renalem Phosphatverlust beruhen - der X-chromosomal vererbte Phosphadiabetes, das Fanconi-Syndrom und die tubuläre Azidose - haben einen normalen Parathormonserumspiegel gemeinsam. Bei unserem Patienten war das Parathormon mehr als achtfach erhöht, so daß diese Erkrankungen nicht vorliegen konnten.

Zwei weitere Erkrankungen können ein rachitisähnliches Bild hervorrufen: Die Hypophosphatasie und die metaphysären Dysostosen (Typ Jansen oder Typ Schmid). Letztere führen zu Auftreibungen der Gelenke, die an Rachitis erinnern. Da die Eltern des Patienten klinisch unauffällig sind, ist metaphysäre Dysostose als autosomal-dominant vererbte Erkrankung äußerst unwahrscheinlich.

Bei der Hypophosphatasämie, die autosomal-rezessiv vererbt wird, liegt radiologisch vor allem ein verminderter Kalkgehalt der Metaphysen mit streifiger, fleckförmiger Mineralisierung im Gelenkbereich sowie eine Häufung von Spontanfrakturen vor. Die Röntgenbilder unseres Patienten zeigten sowohl solche Gelenkbefunde als auch multiple Frakturen. Darüber hinaus war auf den Aufnahmen kein Osteoid - pathognomisch für eine Rachitis im engeren Sinne - zu erkennen. Weitere für die Hypophosphatasämie typische Befunde wie besonders schwerer Befall des Schädel skeletts, Hyperkalzämie und Nephrokalzinose lagen allerdings nicht vor. Die Erkrankung konnte aufgrund der wiederholt mehr als fünffach erhöhten alkalischen Phosphatase ausgeschlossen werden. Es gibt noch die - äußerst seltene -

Pseudohypophosphatasämie, bei der das Bild der Hypophosphatasämie bei normaler oder erhöhter alkalischer Phosphatase vorliegt. Diese kann nur durch eine Säulenchromatographie des Urins ausgeschlossen werden. Sowohl bei der Hypophosphatasämie als auch der Pseudoform ist die Phosphoäthanolaminausscheidung deutlich erhöht. Dies war bei unserem Patienten nicht der Fall.

Ätiologisch kam jetzt nur noch eine Störung von Vitamin D-Zufuhr, -Stoffwechsel oder -Wirkung in Frage.

Eine chronische Nierensuffizienz, die über Störung der 1,25(OH)D-Synthese und der Phosphatausscheidung zu Osteodystrophie führen kann, konnte durch die unauffälligen renal Laborparameter ausgeschlossen werden.

Selten kann auch eine hepatische Erkrankung eine Störung des Vitamin D-Stoffwechsels verursachen. Die Hepatomegalie unseres Patienten war ein Hinweis in diese Richtung, die Leberwerte des Patienten boten aber keinen Anhalt für Zellschäden oder Funktionseinschränkungen.

Eine durch Antikonvulsiva verursachte Rachitis lag nicht vor, da anamnestisch weder Krampfanfälle noch eine diesbezügliche Medikation erfragt werden konnte.

Bezüglich eines Vitamin D-Mangels kommen drei Möglichkeiten in Frage: Mangelnde Sonnenexposition, ungenügender Vitamin D-Gehalt der Nahrung und Malabsorption des Vitamins. Die Mutter gab an, daß sich das Kind bis zu seiner Erkrankung tagsüber fast ständig im Freien aufgehalten habe. Bei dem Wüstenklima in den arabischen Emiraten ist anzunehmen, daß dabei eine ausreichende Besonnung stattgefunden hat.

Der Arztbrief aus den Emiraten, der uns leider erst einige Wochen nach der stationären Aufnahme des Patienten erreichte, enthielt die wichtige Angabe, daß A. M. 6 000

Einheiten D_3 pro Tag intramuskulär über einen Monat verabreicht wurden. In diesem Zeitraum hätten sich bei einer gewöhnlichen Vitamin D-Mangelrachitis zumindest deutliche Anzeichen einer Besserung gezeigt. Durch die parenterale Gabe schied eine intestinale Malabsorption als Ursache der Rachitis ebenfalls aus.

Damit lag der Verdacht einer Vitamin D-abhängigen Rachitis Typ I nahe. Hier wird wegen eines (autosomal-rezessiv vererbten) Defekts der renalen 1-alpha-Hydroxylase trotz ausreichendem 25(OH)D-Serumspiegel stark verminderte Mengen 1,25(OH)D produziert. Dieser Enzymblock kann entweder mit Hilfe von hochdosiertem Vitamin D oder 25(OH)D durch Substratüberschuß überspielt werden oder durch die Gabe des Enzymprodukts (1-hydroxylierte D-Metabolite) in physiologischer Dosierung ausgeglichen werden. Folgerichtig gaben die Ärzte im arabischen Krankenhaus 0,5 µg Alfalcidol pro Tag für vier Monate. Unter dieser Therapie hätte sich bei einer VDAR I eine Besserung einstellen müssen. Da die Schwere der Erkrankung in dieser Zeit deutlich zunahm, war diese differentialdiagnostische Möglichkeit ebenfalls unwahrscheinlich geworden.

Um die ex juvantibus gestellte Diagnose abzusichern, ließen wir die 25(OH)D- und 1,25(OH)D- Serumwerte messen. Der 25(OH)D-Spiegel lag mit 529 ng/ml mehr als vierfach über der oberen Normgrenze, der von 1,25(OH)D mit 320 pg/ml sogar mehr als fünffach. 25(OH)D ist die wichtigste Speicherform des Vitamins. Der stark erhöhte Wert schließt aus, daß die rachitischen Symptome des Patienten durch Vitamin-D-Mangel verursacht sind. Es ist darüber hinaus bemerkenswert, daß die letzte therapeutische Vitamin-D-Gabe, die diesen Wert beeinflußt hat, zum Zeitpunkt der Blutentnahme mehr als vier Monate zurücklag: In München hatte A. M. bis dahin keinerlei Medikation erhalten und die vorübergehende Therapie mit Alfalcidol kann den 25(OH)D-Spiegel nicht erhöht haben, da die Hydroxylierung des C1-Atoms vom Körper nicht rückgängig gemacht werden kann. In diesem Licht erscheint eine intestinale Vitamin-

D-Malabsorption sehr unwahrscheinlich. Bei einer gewöhnlichen Vitamin D-Mangel-Rachitis kann der 1,25(OH)D-Serumspiegel erniedrigt, aber auch normal oder leicht erhöht sein. Pathophysiologisch versucht man letzteres mit dem Vorliegen eines relativen 1,25-OH-D-Mangels zu erklären. Durch den sekundären Hyperparathyreoidismus der infolge der Rachitis auftritt, wird zwar die 1,25(OH)D-Synthese erhöht, aber - infolge des Vitamin D-Mangels - nicht in dem Maße, daß die Rachitis rekompensiert werden kann. Keinesfalls kommen dabei aber 1,25(OH)D-Konzentrationen von 320 pg/ml vor. Solche Werte werden bei Vitamin D-Intoxikation und bei Patienten mit VDAR II gemessen. Gleichzeitig Vorliegen extremer 1,25(OH)D-Plasmaspiegel und florider Rachitis bestätigte die Diagnose Vitamin D-abhängige Rachitis Typ II. Zur weiteren Absicherung der Diagnose VDAR II versandten wir eine Fibroblastenzellkultur aus einer Hautbiopsie des Patienten zu Spezialuntersuchungen an das National Institute of Health, USA.

Hautfibroblasten von gesunden Probanden zeigen in ihrem Zytosol eine spezifische, sättigbare Bindung von 1,25(OH)D in vitro (LIBERMAN et al. 1983). In der Zellkultur unseres Patienten war diese Bindungsfähigkeit nicht nachweisbar (siehe Kapitel 5.5). Dies läßt darauf schließen, daß im Zytosol der Patientenfibroblasten entweder keine 1,25(OH)D-Rezeptoren vorhanden sind oder daß die Rezeptoren funktionsunfähig sind, d. h. kein 1,25(OH)D spezifisch binden können. Der Typ des 1,25(OH)D-Rezeptordefekts korreliert nach den bisherigen Erfahrungen nicht mit der Schwere der VDAR II. In allen vier Defektgruppen - spezifische Bindung weder im Zytosol noch im Zellkern meßbar; im Zytosol, aber nicht im Kern meßbar; spezifische Bindung mit verminderter Kapazität in Zytosol und Zellkern; und "Postrezeptordefekt" mit normaler spezifischer Bindung in Zytosol und Zellkern (siehe Kapitel 3.2.3) - gibt es totale und partielle Defekte der 24-OHase in vitro und korrespondierend schwere und leichte klinische Verlaufsformen.

Innerhalb der Gruppe der unmeßbaren spezifischen Bindungsfähigkeit des 1,25(OH)D-Rezeptors in Zytosol und Zellkern, der auch A. M. zuzurechnen ist, scheint sich nun doch eine Differenzierungsmöglichkeit hinsichtlich der Ausprägung der Erkrankung anzudeuten, die von klinischer Bedeutung sein könnte. Bei einigen Patienten dieser Gruppe wurde die Bindung von 1,25(OH)D bei höheren Inkubationskonzentrationen (bis 9 nM; siehe Kapitel 5.6.1) untersucht. Dieser sogenannte Low Affinity Binding Test ergab bei allen Patienten, mit Ausnahme von A. M., eine meßbare, wenn auch stark verminderte Bindung (persönliche Mitteilung von Dr. Marx), die den Erfolg hochdosierter Kalziferoltherapie bei diesen Patienten erklären könnte (CASTELLS 1986). Die unmeßbare 1,25(OH)D-Rezeptorbindung unseres Patienten auch im Low Affinity Test entspricht dem Versagen der höchstdosierten Kalziferoltherapie und bestätigt die Unverzichtbarkeit der intravenösen Kalziumzufuhr.

Es sind noch zu wenige Patienten dem Low Affinity Test unterzogen worden, um bereits gesicherte Schlußfolgerungen ziehen zu können, zum ersten Mal aber scheint ein Zusammenhang zwischen der Art des 1,25(OH)D-Rezeptordefekts und der Ausprägung der VDAR II in der Klinik denkbar.

Da bisher die Typisierung des Defektes in vitro keine Aussage über optimale Therapie und Prognose ermöglichte, suchte man intensiv nach in vitro-Methoden, die solches ermöglichen sollten.

So wurde neben der Untersuchung der Rezeptorbindung ein weiterer Test entwickelt, der die Induzierbarkeit eines Vitamin D-abhängigen Enzymsystems in vitro überprüft. Da allgemein anerkannt ist, daß wichtige Vitamin D-Wirkungen via rezeptorvermittelter Induktion der intrazellulären Proteinsynthese eingeleitet werden (siehe Kapitel 2.5), ist ein pathologischer Befund in vitro ein Hinweis auf eine Störung der Vitamin D-Wirkung in vivo. Fibroblasten gesunder Probanden zeigen nach Präinkubation mit 1,25(OH)D eine Induktion der 24-OHase (GAMBLIN et al. 1985). Unser Patient zeigte keine reproduzierbare Induktion dieses Enzyms (siehe Kapitel 5.5).

Damit waren in der Fibroblastenkultur unseres Patienten sowohl Rezeptorfunktion als auch Bioresponsetest pathologisch.

Die Diagnose VDAR II war bei unserem Patienten somit durch klinischen Verlauf (Mißerfolg von VDMR- und VDAR I-Therapie), Labor (insbesondere stark erhöhte 1,25(OH)D-Serumwerte vor Therapie) und Zellkulturuntersuchungen gesichert.

6.2 Hämatologie

6.2.1 Extramedulläre Hämatopoese-Jaksch-Hayem'sche Anämie

Der Patient zeigte bei Aufnahme ein pathologisches Blutbild, Knochenmarkbiopsien ohne hämatopoetische Zellen und eine ausgeprägte Hepatosplenomegalie.

Blutbild

In Abschnitt I und II fanden sich (siehe Kapitel 4.4.2) eine starke Erythrobastose bis 4 000 Blasten pro μl peripheres Blut, Retikulozytose bis 130 ‰, Leukozytose bis 21 000/ μl mit extremer Linksverschiebung (um 550 Myelozyten pro μl peripheres Blut).

Der Verdacht auf extramedulläre Blutbildung lag nahe. Hierbei werden in erhöhtem Maße unreife Zellen ins periphere Blut geschwemmt, da die Schrankenfunktion, die im Knochenmark für diese Zellen besteht, in Leber und Milz erheblich vermindert ist. Um diese Annahme zu erhärten, mußte eine Reihe von anderen Erkrankungen ausgeschlossen werden, die zu hohen Zahlen unreifer Zellen im peripheren Blut führen können: insbesondere maligne Erkrankungen des weißen Systems und hämolytische Anämien als Ursache für eine Hyperregeneration der Erythrozyten.

Ein Lymphom oder eine Retikuloгранulomatose Abt-Letterer-Siwe waren bereits aufgrund des unauffälligen Lymphknotenstatus unwahrscheinlich. Infrage kam vor allem eine Leukose, etwa im Sinne einer Sonderform der chronisch-myeloischen Leukämie. Es wurde eine Nadelbiopsie am Beckenkamm entnommen. Dabei konnten keinerlei hämatopoetische Zellen gewonnen werden, es entstand der Verdacht auf ein sogenanntes leeres Mark. Die Tatsache, daß auch kein Knochen, sondern nur Knorpel in dem Biopsiematerial enthalten war, warf die Frage auf, ob mit der Punktion überhaupt aussagefähiges Material gewonnen wurde. Obwohl die Biopsie von einem erfahrenen Untersucher vorgenommen wurde und auch die radiologischen Befunde (...extrem entminerali-

siertes Skelett... kein sicheres Osteoid erkennbar..) in Einklang mit dem bioptischen Ergebnis waren, entschlossen wir uns wegen der erheblichen Bedeutung des Befundes zu einer Wiederholung der Beckenkammbiopsie. Beim zweiten Mal enthielt das Material geringe und deshalb nicht beurteilbare Anteile von Knochen, aber wiederum keinerlei hämatopoetische Zellen. Damit war eine maligne Erkrankung des Knochenmarks ausgeschlossen, es lag ein leeres, fibrotisches Knochenmark ohne hämatopoetische Aktivität vor.

Bei extramedullärer Blutbildung werden aus Leber und Milz auch unreife Zellen der roten Reihe ins periphere Blut ausgeschwemmt. Diese Tatsache bot in unserem Falle eine überzeugende Erklärung der Erythroblastose des Patienten. Dennoch mußten eventuelle andere Erkrankungen des roten Systems ausgeschlossen werden. Hyporegeneratorische Formen der Anämie schieden wegen der starken Retikulozytose von vornherein aus. Eine verstärkte Neubildung von Erythrozyten liegt vielmehr bei verkürzter Lebensdauer der Zellen aufgrund von Blutungen oder Hämolyse vor. Für eine chronische Blutung konnte kein Anhalt gefunden werden. Auch für eine Hämolyse fand sich keine Ursache: Im Ausstrich waren keine für einen Erythrozytenmembrandefekt typischen Zellformen zu entdecken, der negative direkte und indirekte Coombstest schloß ein autoimmunologisches Geschehen weitgehend aus. Es lagen keine anamnestischen Hinweise auf Medikamente oder andere Stoffe vor, die eine toxische Hämolyse verursachen können. Für einen hereditären Enzymdefekt der Erythrozyten und für eine parasitäre oder bakterielle Hämolyse fanden wir keinen Anhalt. Darüber hinaus würde sich eine Hämolyse, die eine so starke Retikulozytose nach sich zieht, auch Laborparameter wie das indirekte Hämoglobin beeinflussen. Nach Ausschluß dieser Erkrankungen sprach alles für eine extramedulläre Blutbildung, für die auch eine Hepatosplenomegalie typisch ist. Extramedulläre Blutbildung tritt bei Kindern unter erhöhten Anforderungen auf, und zwar umso leichter, je jünger die Kinder sind. Es handelt sich dabei um ein Zurückgreifen auf Blutbildungsorte aus der Fetalzeit.

Hepatosplenomegalie

Die Hepatosplenomegalie gehört zum Symptomkomplex der extramedullären Blutbildung. Leber und Milz schwellen an, wenn der kindliche Organismus auf diese fetalen Blutbildungsstätten zurückgreift.

Obwohl also mit der Diagnose "extramedulläre Hämatopoese" ein Krankheitsbild vorlag, das typischerweise eine Hepatosplenomegalie nach sich ziehen kann, waren die vielfältigen anderen Ursachen für eine Leber- und Milzvergrößerung zu bedenken. Eine venöse Stauung, Abszesse, Zysten, Tumore, Zirrhose und eine Gallenstauung konnten durch den Ultraschallbefund ausgeschlossen werden. Der Ausschluß von leukämischen Erkrankungen, die insbesondere zu Milzvergrößerungen führen können, wurde bereits weiter oben erwähnt. Auch Infektionen können eine Leber- und/oder Milzvergrößerung hervorrufen. Bezüglich der Milz kamen wegen der arabischen Herkunft des Patienten auch Malaria und Kala Azar in Frage. Sie wurden durch die Untersuchung eines "Dicken Tropfens" bzw. serologisch ausgeschlossen. Serologisch wurden auch die wichtigsten Infektionen ausgeschlossen, die die Leber vergrößern können: Hepatitis A und B, Mononukleose (Epstein-Barr-Virus), Cytomegalie, Röteln, Herpes und Lues. Beim Elisa-Test für Cytomegalie lag ein positives Ergebnis vor, eine daraufhin durchgeführte Untersuchung von IgM war aber negativ, so daß sich kein Verdacht auf eine frische Infektion ergab. Für eine Septikämie, die ebenfalls eine Hepatosplenomegalie verursachen kann, gab es bei der Aufnahme keinen Hinweis. Im Stuhl konnten keine pathogenen Bakterien entdeckt werden, allerdings wurden massenhaft Lamblienzysten gefunden. Eine Lambliasis kann durchaus in seltenen Fällen eine Hepatosplenomegalie auslösen, in unserem Falle ist dies aber eher unwahrscheinlich, da nach erfolgreicher Therapie mit Ornidazol und mehrfach negativen Stuhlkontrollen die Lebervergrößerung persistierte.

Weiter gibt es eine lange Reihe von Stoffwechsel- und Speicherkrankheiten, die eine Spleno- und/oder Hepatomegalie verursachen können. Die Wesentlichen seien im folgenden genannt:

Galaktosämie, Fruktoseintoleranz, Morbus Wilson, Hyperlipidämien, Kwaschiorkor, Glykogenosen, Mucopolysaccharidosen, Lipidosen, Amyloidose, Hämochromatose, Zystinose. Es lagen neben der Hepatosplenomegalie keine weiteren Indizien für diese Erkrankungen vor; dennoch versuchten wir diese im einzelnen auszuschließen, soweit der Aufwand und die Belastung des kleinen Patienten gerechtfertigt schien. Die Galaktosämie schied wegen des negativen Beutlertests aus. Normale Zuckerausscheidung im Harn sowie das Fehlen von hypoglykämischen Symptomen nach fruktosehaltiger Nahrung machten die Fruktoseintoleranz unwahrscheinlich. Beim Morbus Wilson sind die Kupfer- und Coeruloplasminserumwerte im Gegensatz zu unserem Patienten erniedrigt. Die Erkrankung beginnt in der Regel auch wesentlich später und geht mit neurologischen Symptomen einher. Normales Gesamteiweiß und Albumin schlossen Kwaschiorkor aus. Für Mucopolysaccharidosen, Lipidosen oder eine Amyloidose lagen keine Symptome vor. Eine Zystinose war bei unauffälliger Spaltlampenuntersuchung unwahrscheinlich. Für das Vorliegen einer Glykogenose bestand kein Anhalt. Mit Sicherheit läßt sie sich jedoch nur durch eine Leberpunktion ausschließen. Diese wäre zum anderen auch beweisend für die hepatische Hämatopoese gewesen und hätte den Ausschluß von Morbus Wilson und Fruktoseintoleranz bestätigen können. Nach langer Abwägung entschlossen wir uns, diese nicht durchzuführen, da das knapp zweijährige Kind durch die vielen, ob des seltenen und komplexen Krankheitsbildes nötigen Untersuchungen bis an die Grenze belastet war, da aufgrund des pathologischen Thrombelastogramms (siehe Kapitel 4.4.2) und der vorliegenden grenzwertigen Anämie die Wahrscheinlichkeit einer bedrohlichen Blutung erhöht war, und da zugleich ein überzeugendes pathophysiologisches Konzept zur Erklärung der Hepatosplenomegalie gegeben war.

Die Jaksch-Hayem'sche Anämie

Nachdem also die hämatologischen Symptome - unreife Zellen im peripheren Blut, hämatopoetisch inaktives Knochenmark und Hepatosplenomegalie - der Diagnose extramedullärer Blutbildung zugeordnet waren, stellte sich die Frage eines ätiologischen Zusammenhangs mit der Vitamin D-Stoffwechselstörung bei VDAR II. Einen entscheidenden Hinweis auf einen solchen Zusammenhang gab Prof. Dr. K. Betke, emeritierter Direktor des Dr. von Haunerschen Kinderspitals der Universität München. Als ihm der Patient vorgestellt wurde, erinnerte er sich sofort der Jaksch-Hayem'schen Anämie, die zu Beginn seiner ärztlichen Tätigkeit nicht selten auftrat.

Die Erkrankung wurde etwa gleichzeitig von Rudolf Ritter von Jaksch-Wartenhorst (JAKSCH 1889) und Georges Hayem (HAYEM 1889) beschrieben. Von Jaksch schrieb: "Man findet hochgradige Schwellung der Milz, der Leber, der Drüsen, dauernde, sehr beträchtliche Leukocytose (Verhältnis der weißen Blutzellen zu den rothen 1:20, 1:17, 1:12), trotzdem ergibt der Sectionsbefund keine Leukämie". Er bezeichnete die Erkrankung als Anaemia infantum pseudoleucaemica (API), um sie deutlich von der Leukämie abzugrenzen. Im weiteren Verlauf betont er, daß "- wie jedem Arzt wohl bekannt ist - Fälle von Milztumor und Rhachitis mit anämischen Erscheinungen ohne leukämischen Sectionsbefund häufig beobachtet werden." Abschließend betont er, daß die Unterscheidung von Anaemia pseudoleucaemica infantum und Leukämie "nicht bloss wissenschaftliches, sondern auch ganz hervorragend praktisches Interesse hat: Während die Leukämie eine Affection ist, die wie bei dem Erwachsenen auch beim Kind und in - wie es scheint - noch rascherem Verlauf als bei diesem stets zum Tode führt, stellt sich die Prognose für die Anaemia pseudoleukämica nicht so ungünstig." Hayem stellt in seiner Arbeit vor allem die auffallend hohe Zahl von kernhaltigen roten Blutkörperchen heraus. Er betont wie von Jaksch den gutartigen Charakter der Erkrankung, trotz der überaus starken Verän-

derung des Blutbildes. Im Gegensatz zu von Jaksch, der auf den Zusammenhang zwischen API und Rachitis hinweist, sieht Hayem die Syphilis und Verdauungsstörungen wie Diarrhoe als Hauptursachen an.

Zwanzig Jahre später faßt A. Japha die Erkenntnis über die API zusammen (JAPHA 1910): "Schwere Rachitis begleitet die schwere Säuglingsanämie fast immer, beide Krankheiten sind wohl als verschiedene Folgen derselben Ursache anzusehen."

Weitere Zusammenhänge sieht Japha in Ernährungsstörungen, Darmkatharrhen, Frühgeburt und schweren Infektionskrankheiten wie Tuberkulose und Syphilis. Typische Blutbefunde seien unterschiedlich ausgeprägte Verminderung von Hämoglobin und Erythrozytenzahl, vor allem aber die pathologische Erythrozytenmorphologie und die starke Erythroblastose. Im weißen Blutbild läge eine Leukozytose vor, bei der das Verhältnis von Lymphozyten zu Granulozyten meist nur wenig gestört sei. Auffälligster Befund seien Myelozyten im peripheren Blut.

Die Differentialdiagnose zur Perniziosa sei wegen des Milztumors und der Leukozytose leicht, gegenüber der Leukämie oft schwierig.

Therapeutisch empfiehlt Japha vollwertige Ernährung, Licht und Luft sowie Phosphorlebertran und Eisenpräparate.

Die Prognose sieht er insgesamt als günstig an, obwohl in schweren Fällen Bronchopneumonien zum Tode führen könnten.

Nach dem Zweiten Weltkrieg geriet dann die Jaksch-Hayem'sche Anämie mehr und mehr in Vergessenheit. Dies hatte vor allem zwei Gründe:

- Es war den Ärzten damals nie gelungen, eine einheitliche pathophysiologische Erklärung zu finden. Obwohl viele Autoren den Zusammenhang zur Rachitis betonten, sahen andere vor allem infektiös-toxische Ursachen.
- Als dann endlich das Vitamin D entdeckt war und die Erkenntnisse über die Rachitis wuchsen, wurde die API so rasch seltener, daß sie keine Aufmerksamkeit auf sich lenken konnte.

Dennoch wurde auch in neuerer Zeit von weiteren Fällen von extramedullärer Blutbildung bei Vitamin D-Mangelrachitis berichtet: COOPERBERG et al. 1966, CAVAROC et al. 1970 und YETGIN et al. 1982 beschreiben eine Reihe von Fällen mit reversibler Myelofibrose bei Vitamin D-Mangel, welche die typischen Symptome der Jaksch-Hayem'schen Anämie zeigen. Vor allem die Arbeit von YETGIN et al. 1982, die über 11 Patienten berichtet, schildert die eindrucksvolle Besserung der Befunde unter Vitamin D-Therapie.

Den heutigen Kenntnisstand über die Jaksch-Hayem'sche Anämie kann man wie folgt zusammenfassen:

- Die Jaksch-Hayem'sche Anämie ist eine Sonderform der extramedullären Blutbildung bei Rachitis.
- Die extramedulläre Hämatopoese ist eine an und für sich unspezifische Reaktion des kindlichen Organismus auf verschiedene Störungen des Skelettsystems (Rachitis, Osteopetrose) und infektiös-toxischer Art. Sie stellt einen Rückgriff auf fetale Blutbildungsstätten dar: Nach den ersten Entwicklungswochen, in denen die Blutbildung vor allem im Dottersack stattfindet, ist sie in Leber und Milz lokalisiert. Erst in der zweiten Schwangerschaftshälfte tritt dann zunehmend das Knochenmark in den Vordergrund. Die Entwicklung der Knochenmarkshämatopoese wurde mit eindrucksvollen Bildern von Prof. Dr. R. J. Haas (HAAS et al. 1978) beschrieben, der den Patienten hämatologisch mitbetreute.
- Als Jaksch-Hayem'sche Anämie sollte - um der klaren Definition des Krankheitsbildes willen - nur die extramedulläre Blutbildung bei Rachitis bezeichnet werden.
- Das Auftreten der Erkrankung in den oben genannten Fällen und bei unserem Patienten zeigt, daß die Jaksch-Hayem'sche Anämie trotz ihrer Seltenheit auch heute noch von Bedeutung ist.

- Der Patient A. M., der erste mit VDAR II und extramedullärer Blutbildung, ermöglicht neue Einblicke in die Pathogenese der Erkrankung. Hypothesen, die sich aus dem Verlauf der hämatologischen Befunde ergeben, werden in Kapitel 8.1 diskutiert.

6.2.2 Eisenmangel

Ein erniedrigtes Serumeisen von 35 µg/dl (normal 60 - 140), eine hohe Eisenbindungskapazität von 402 µg/dl (normal 250 - 420) und ein erniedrigtes Ferritin von 28,7 ng/ml (normal 52 - 334) wiesen bei Aufnahme auf einen Eisenmangel des Patienten hin. Hämoglobin und Hämatokrit des Patienten lagen bei mehrfachen Kontrollen im Normbereich; der Eisenmangel führte also nicht zu der ausgeprägten Anämie. Die Mikro-, Aniso- und Poikilozytose mit Target- und Teardropzellen sowie die Hypo- und Polychromasie des Patienten, ansonsten typische Zeichen der Eisenmangelanämie, waren wegen der extramedullären Blutbildung in dieser Hinsicht von zweifelhafter diagnostischer Wertigkeit. Die pathologische Erythrozytenform und -färbung entsteht typischerweise bei überstürzter Freisetzung von Zellen ins periphere Blut, die bei dem Patienten durch die mangelhafte Schrankenfunktion der extramedullären Blutbildungsorte bedingt war. Die Frage blieb offen, ob der Eisenmangel zur pathologischen Erythrozytenmorphologie beigetragen hat. Als Ursachen schienen uns zum einen ungenügende Eisenversorgung als auch verstärkte Zellmauserung möglich. Die unreifen roten Formen haben in der Peripherie eine verringerte Lebenszeit und führen so zu verstärkter Neusynthese, der erhöhte Eisenumsatz kann erhöhte Eisenverluste bedingen.

Wir führten eine orale Eisensubstitution durch (siehe Kapitel 4.5.1). Der weitere Verlauf des Eisenmangels wird in 8.2 diskutiert.

6.2.3 Pathologische Thrombozytenfunktion

Das Thrombelastogramm war bei mehrfachen Kontrollen pathologisch (siehe Kapitel 4.6.2). Da in weiteren Untersuchungen eine Störung der plasmatischen Gerinnung und ein von Willebrand-Jürgens-Syndrom ausgeschlossen werden konnte, und die Thrombozytenzahl bei vielfachen Kontrollen immer im Normbereich lag, handelt es sich offensichtlich um eine umschriebene Störung der Thrombozytenfunktion.

Da der Patient klinisch keine erhöhte Blutungsneigung zeigte, waren keine therapeutischen Maßnahmen notwendig.

Die Ursache der Thrombopathie bleibt im Dunkeln. Es könnte sich durchaus um eine akzidentelle Störung handeln.

Bei Lymphozyten, Monozyten und Granulozyten liegen mittlerweile Erkenntnisse vor, daß $1,25(\text{OH})\text{D}$ die Differenzierung und Funktion dieser Zellen beeinflußt (siehe Kapitel 8 und 9). Es ist verlockend darüber zu spekulieren, ob die Vitamin D-Stoffwechselstörung des Patienten eventuell an der Thrombopathie ursächlich beteiligt sein könnte. In der Literatur gibt es in diesem Zusammenhang bisher weder Fallberichte noch experimentelle Arbeiten. Es ist eine reizvolle Aufgabe für die Zukunft, eventuellen Wirkungen von $1,25(\text{OH})\text{D}$ auf die Thrombozytenreifung und -funktion nachzuforschen.

7. Therapie und Verlauf der Vitamin D-abhängigen Rachitis Typ II

7.1 Mineralstoffwechsel und Knochenumsatz

7.1.1 Kalzium, Parathormon, Phosphat und alkalische Phosphatase im Serum und renale Mineralausscheidung

Die Diskussion der Rachitistherapie ist nach den in Tab. 17 genannten Abschnitten gegliedert. Die Laborwerte sind - soweit nicht anders angegeben - aus Tab. 18 zitiert. Es handelt sich um Mittelwerte des entsprechenden Parameters im jeweiligen Therapieabschnitt.

Abschnitt I und II - Diagnostische Maßnahmen

In der Zeit vom 14. - 21. Juni 1984 (I) wurde keine Therapie durchgeführt. In diesem Zeitraum nach der stationären Aufnahme wurde der Patient eingehend untersucht, um das Krankheitsbild näher einzugrenzen.

Dann begannen wir mit einer Rachitistherapie, da eine Erkrankung aus diesem Formenkreis am wahrscheinlichsten war (II). Wir verabreichten Vitamin D₃ in steigenden Tagesdosen von 2 000 bis 20 000 I.E. Zusätzlich zu den in der Nahrung enthaltenen Mineralien erhielt der Patient 40 - 180 mg Kalzium pro Tag als 10 %ige Kalziumglukonat- und -saccharat-Lösung. In Anbetracht des niedrigen Serumphosphatspiegels um 0,8 mmol/l (n = 3) hielten wir eine zusätzliche Phosphatgabe für sinnvoll.

Für diese Therapie sprach auch ein Fallbericht von ROSEN et al. 1979: Zwei Schwestern, drei und sieben Jahre alt, wiesen viele Ähnlichkeiten mit unserem Patienten auf; sie zeigten Hypokalzämie, Hypophosphatämie, erhöhte alkalische Phosphatase, Hyperparathyreoidismus und das Bild einer floriden Rachitis. Ihre Eltern waren als Cousins zweiten Grades blutsverwandt. Beide wurden je drei Wochen mit 0,5 und 0,75 µg 1,25(OH)D pro Tag (= 0,04 bzw. 0,06 µg/kg KG und 24h) behandelt. Unter dieser Therapie konnte außer

einem deutlichen Anstieg des 1,25(OH)D-Serumspiegels keine Veränderung in Labor und Klinik festgestellt werden. Deswegen erhielten beide anschließend 1,5 g elementaren Phosphor als Lösung aus Natriumbiphosphat und Natriumphosphorsäure (= 120 mg P/kg KG und 24 h). Nach einigen Wochen dieser Phosphattherapie wurde eine leichte Besserung der Serumwerte von Phosphat, Kalzium und AP bei in etwa gleichbleibenden Parathormonspiegeln an der oberen Normgrenze beobachtet. Laut Bericht hatten sich die radiologischen Befunde gebessert, das Wachstum war merklich beschleunigt.

Wir verabreichten unserem Patienten 440 mg elementaren Phosphor pro Tag (= 60 mg/kg KG und 24h) in einer Lösung aus Natriummono- und diphosphat.

Beim Vergleich der Zeilen I und II der Tab. 18 fällt vor allem die Erhöhung des Serum-Phosphatspiegels auf. Der Mittelwert von 1,3 mmol/l (n = 4) entsprach der unteren Normgrenze. Die gegenüber Zeile I deutlich vergrößerte Standardabweichung dürfte auf unterschiedlich große Intervalle zwischen Phosphatgabe und Blutentnahme zurückzuführen sein. Der mehr als dreifach über der Normgrenze liegende Parathormonwert von 2,88 ng/ml ist typisch für die rachitische Erkrankung. Es ist nicht auszuschließen, daß die orale Phosphattherapie in Abschnitt II den Hyperparathyreoidismus noch zusätzlich verstärkt hat. Leider liegt kein PTH-Vergleichswert aus Abschnitt I ohne Phosphattherapie vor.

Die orale Phosphattherapie führte unter dem sekundären Hyperparathyreoidismus zu einer starken Phosphaturie. Während die Phosphatausscheidung im 24-Stunden-Urin (Tab. 21a) in Abschnitt I an der unteren Normgrenze von 0,37 mmol/kg und 24h lag, stieg sie in Abschnitt II um das Vierfache auf Werte über 1,4 mmol/kg und 24h an und lag damit klar über der oberen Normgrenze.

Die alkalische Phosphatase war - rachitistypisch - deutlich erhöht. Die Werte lagen mit über 3 000 U/l mehr als fünffach über der oberen Normgrenze.

Der Kalziumserumspiegel fiel von 2,11 mmol/l ($n = 4$) auf 2,05 mmol/l ($n = 4$). Auf dieses Absinken des Kalziumspiegels, das im weiteren Verlauf deutlicher wurde, wird später ausführlich eingegangen. Die Kalziumausscheidung im 24-Stunden-Urin lag in den Abschnitten I und II im Bereich der unteren Normgrenze von 0,028 mmol/kg und 24h (Tab. 21a).

Zum Zeitpunkt der Aufnahme lag also eine Rachitis schwersten Grades vor. Trotz eines starken sekundären Hyperparathyreoidismus konnte nicht mehr genügend Kalzium aus dem bereits extrem demineralisierten Skelett (siehe Röntgenbefunde Kapitel 4.4.5) freigesetzt werden, um einen normalen Kalziumserumspiegel aufrecht zu erhalten. Die Hypokalzämie ist sicherlich nicht durch die minimale Kalziumausscheidung im Urin zu erklären. Aufgrund des demineralisierten Skeletts fehlte in Abschnitt I die hyperparathyreoidismustypische Phosphaturie. Die Effektivität des Parathormons zeigt sich unter der oralen Phosphattherapie. Sofort stieg die Phosphatausscheidung im Urin stark an.

Abschnitt III und IV - hochdosierte Kalziferoltherapie

Mitte Juli 1984 stand dann nach dem Eintreffen des Arztbriefs aus den Vereinigten Arabischen Emiraten und der Resultate der 25- und 1,25(OH)D-Serumspiegel die Diagnose Vitamin D-abhängige Rachitis Typ II fest. Daraufhin begannen wir nach dem Studium der Fallberichte (siehe Kapitel 3.2) und in Rücksprache mit Prof. K. Kruse, Würzburg, mit der hochdosierten Kalziferoltherapie.

Wahl des geeigneten Vitamin D-Metaboliten

Die zur Behandlung einer Vitamin D-Stoffwechselstörung zur Verfügung stehenden Präparate lassen sich in drei Untergruppen einteilen:

- physiologische, am Cl-Atom hydroxylierte Substanzen: Alfacalcidol ($1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$) und Calcitriol ($1,25(\text{OH})\text{D}_3$)

- physiologische, nicht am Cl-Atom hydroxylierte Substanzen: Cholecalciferol (D_3), Ergocalciferol (D_2) und Calcifediol ($25(OH)D_3$)
- synthetische Substanzen: Dihydratachysterol (DHT) und 5,6trans-25-Hydroxyvitamin D (5,6-trans- $25(OH)D$)

Die letztgenannten synthetischen Präparate bieten keine entscheidenden Vorteile gegenüber den physiologischen Substanzen, die ihre Anwendung rechtfertigen würden.

Calcitriol und Alfacalcidol besitzen beide bereits für die biologische Wirksamkeit entscheidende Hydroxylgruppe am Cl-Atom. $1\alpha(OH)D_3$ muß nur noch in der Leber an C25 hydroxyliert werden. Da dieser Schritt in vivo mit praktisch unbegrenzter Kapazität stattfindet, hat Alfacalcidol nahezu die gleiche biologische Aktivität wie Calcitriol. Auf der 1-Hydroxylierung beruht wohl auch die Tatsache, daß die Wirkung einer Behandlung mit diesen Präparaten schon nach einigen Tagen bis etwa 3 Wochen eintritt, während ein Ansprechen auf eine Therapie mit Vitamin D erst nach vier Wochen bis einigen Monaten festzustellen ist (KRUSE 1985).

Dieser Vorteil war bei der Wahl des Medikaments für unseren Patienten entscheidend, da bei der Therapie mit immer stärker steigenden Dosen ein eventueller Erfolg so bald wie möglich sichtbar werden sollte, damit eine weitere Dosiserhöhung und die daraus folgende Intoxikationsgefahr vermieden werden konnte.

Ein weiterer wesentlicher Vorteil der 1-hydroxylierten Metabolite ist die kürzere Abklingzeit toxischer Effekte im Vergleich zu Vitamin D und $25(OH)D$, weil letztere als Speicherformen eine wesentlich längere biologische Halbwertszeit haben (siehe Tab. 37).

Tabelle 37: Medikamente zur Behandlung von Vitamin D-Stoffwechselstörungen

Die Abklingzeit toxischer Effekte ist nach KRUSE 1985 zitiert. Unter Tagesdosen sind aus Tab. 7 die jeweils höchsten Dosierungen der Substanzen angegeben, bei denen eine Heilung der VDAR II stattfand. Aus diesen Angaben wurde nach der Roten Liste 1985 unter Verwendung der jeweils günstigsten Darreichungsform die Tageskosten der VDAR II-Therapie berechnet.

- (a) in der BRD nicht im Handel
- (b) bisher nicht angewendet
- (c) keine ausreichenden Erfahrungen

Substanz	Abklingzeit (Tage) toxische Effekte	Tagesdosen bei VDAR II	Tageskosten der Therapie
1,25(OH)D ₃	2 - 10	20 µg	85 DM
1 (OH)D ₃	5 - 10	90 µg	230 DM
25(OH)D ₃	7 - 30	200 µg	5 DM
D ₃	17 - 60	4 Mio I.E.	17 DM
D ₂	17 - 60	7 Mio I.E.	- (a)
DHT	3 - 14	- (b)	-
5,6-trans-25(OH)D ₃	(c)	- (b)	-

Die Vorteile der anderen Kalziferole schienen uns dagegen weniger gravierend zu sein:

- Die Tagestherapiekosten liegen bei letzteren etwa um den Faktor 10 niedriger (siehe Tab. 37).
- Bei Vitamin D oder 25(OH)D besteht die Möglichkeit der Bildung weiterer, evtl. für den Knochenstoffwechsel wichtiger Metabolite wie z. B. 24,25(OH)D. Es liegen bisher keine gesicherten Erkenntnisse vor, daß dies von klinischer Relevanz sein könnte.
- Vitamin D und 25(OH)D unterliegen bei der 1-Hydroxylierung noch einer gewissen Regulation des Organismus. Das große Intoxikationsrisiko bei Vitamin D-Therapie zeigt aber, daß dieser Faktor nur von geringer Bedeutung ist.

Diese Vorteile erschienen uns gering gegenüber der Tatsache, daß bei einer Vitamin D-Intoxikation wochenlang anhaltende Hyperkalzämien zu irreversiblen Organschäden führen können.

Durchführung der Therapie

Wir begannen mit 4 µg Alfacalcidol pro Tag und steigerten in etwa zweiwöchigen Abständen auf 8 und 12 µg/Tag. Mit zunehmender Dosis erwies es sich als immer schwieriger, den zweijährigen Patienten zum Einnehmen der relativ großen Kapseln zu bewegen. Auf unsere Anfrage stellte uns die Fa. Hoffmann La Roche eine nicht im Handel befindliche Calcitriollösung zur Verfügung. Wir setzten die Therapie mit 12 µg Calcitriol pro Tag fort und steigerten die Tagesdosen innerhalb von 5 Wochen auf 99 µg.

Unter dieser höchstdosierten Therapie kam es zu einem allmählichen Absinken des Serumkalziums auf 1,90 mmol/l (n = 9) in Abschnitt IV gegenüber einem Anfangswert 2,11 mmol/l (I; n = 4). Zuletzt wurden Einzelwerte von 1,76 und 1,56 mmol/l Kalzium gemessen. Zwei Erklärungen schienen für das Absinken des Serumkalziums möglich:

- Ein "hungry bone phenomenon", das bei beginnender Rachitisheilung auftreten kann. Der Kalziumeinbau in den entmineralisierten, "hungrigen" Knochen wächst schneller als die intestinale Kalziumabsorption und führt so zu einem vorübergehenden Absinken der Kalziumserumkonzentration. Bei unserem Patienten allerdings zeigten die radiologischen Kontrollen der Skelettmineralisation eher eine weitere Verschlechterung der Befunde und schlossen so ein "hungry bone phenomenon" aus.
- Es war nicht auszuschließen, daß die orale Phosphatsubstitution zu der stärker werdenden Hypokalzämie beigetragen haben könnte. Trotz fortgeführter oraler Phosphatsubstitution sank der Phosphatserumwert wieder auf subnormale Werte von 0,8 mmol/l /III und IV; n = 8) ab. Daran könnte neben der Dosisreduzierung von 440 auf 220 mg Phosphor pro Tag auch die starke Phosphaturie mit Werten um 30 mmol/l im Morgenurin (Tab. 21b, III und IV) beteiligt sein. Ein Zusammenhang zwischen der erhöhten renalen Phosphatausscheidung und den auf deutlich über 3 ng/ml gestiegenen Parathormonwerten (Tab. 18) ist

naheliegend. Eine Verstärkung des Hyperparathyreoidismus kann über eine vermehrte Freisetzung von Mineralien aus dem Skelett auch zu einer Negativierung der Kalziumbilanz und auf diese Weise zum Absinken des Serumkalziums von 2,11 auf 1,90 mmol/l beigetragen haben.

In zwei weiteren VDAR II-Fallberichten wird eine Verschlechterung von Laborwerten und Klinik unter oraler Phosphattherapie berichtet (SOCKALOSKY et al. 1980 und BALSAN et al. 1983). Es erscheint also offensichtlich, daß auch eine schwere Hypophosphatämie bei Rachitis keine Indikation für eine Phosphatsubstitution ist. Diese führt über eine Verstärkung des bereits vorhandenen Hyperparathyreoidismus zu einer Verschlechterung der Erkrankung. Eine Normalisierung des Serumphosphats tritt auch ohne Substitution durch das Absinken des Parathormonspiegels bei der Abheilung der Rachitis ein.

- Neben einer möglichen Verschlechterung des Mineralstoffwechsels durch die orale Phosphatsubstitution war offensichtlich, daß unsere Therapie mit höchstdosiertem Kalziferol und oralem Kalzium ohne positiven Effekt blieb. Ein Vergleich der Abschnitte III (bis 16 µg/Tag Calcitriol und bis 3 g/Tag orales Kalzium) und IV (bis 99 µg Kalzitriol und bis 5 g/Tag orales Kalzium) zeigt, daß die weitere Steigerung der Dosierungen nicht die erhoffte Wirkung hatte: Das Serumkalzium sank von 1,97 auf 1,90 mmol/l (jeweils n = 9), die Serumwerte von Phosphat, alkalischer Phosphatase und Parathormon blieben unverändert pathologisch (siehe Tab. 18).

Eine weitere Steigerung der Calcitrioltherapie auf über 100 µg/Tag erschien uns nicht mehr sinnvoll. Offensichtlich gehört A. M. zu den VDAR II-Patienten, die nicht in der Lage sind, mit einer Kalziferol-Therapie noch normokalzämisch zu werden. Da die Skelettmineralisation radiologisch weiter abnahm und die Hypokalzämie ein bedrohliches Ausmaß erreichte, entschlossen wir uns zur Kalziuminfusion.

Abschnitte V bis VIII - kontinuierliche Kalziuminfusion

Zur Behebung der bedrohlich gewordenen Hypokalzämie entschlossen wir uns zu einer Kalziuminfusionstherapie. Wir begannen mit 60 ml einer 10 %igen Kalziumlösung, die wir über Perfusor kontinuierlich über 24 Stunden in eine periphere Vene infundierten. Dies entsprach einer täglichen Dosis von 550 mg elementaren Kalziums bzw. etwa 75 mg/kg KG und 24h.

Innerhalb weniger Tage stieg das Serumkalzium von 1,90 mmol (IV, n = 9) auf 2,15 mmol/l (V, n = 4). Die alkalische Phosphatase fiel im gleichen Zeitraum von 3 167 (n = 9) auf 2 382 U/l (n = 4). PTH fiel von 3,28 (n = 3) auf 2,72 (n = 1), das Serumphosphat blieb in etwa gleich. Nach einer fünftägigen kontinuierlichen Kalziuminfusion war also zum ersten Mal eine deutliche Besserung bei dem Patienten zu konstatieren.

Nachdem sich unsere Befürchtung nicht bewahrheitet hatte, daß unter der hochdosierten Therapie von 99 µg Calcitriol pro Tag die Kalziuminfusion eine perakute Hyperkalzämie auslösen könnte, steigerten wir die Infusion von elementarem Kalzium auf 740 mg/24h entsprechend 100 mg/kg KG und 24h.

Nach dem Eintreten der Besserung stellten wir die Kalziferoltherapie von Calcitriol auf Vitamin D₃ um. Dies geschah aus folgenden Gründen:

- Da unter höchstdosierter Calcitrioltherapie und gleichzeitiger Kalziuminfusion keine Vitamin D-Intoxikation mit Hyperkalzämie aufgetreten war, war ein Intoxikationsrisiko bei unserem Patienten kaum gegeben. Deshalb fiel der Nachteil der langanhaltenden Intoxikationsercheinungen bei Vitamin D₃-Therapie nicht mehr ins Gewicht.
- Außerdem fiel nach Einsetzen der Besserung ein wesentlicher Vorteil der 1-hydroxylierten Metaboliten - die relativ geringe Verzögerung des Wirkungseintritts weg.

- Dazu kamen die bei den hohen Dosierungen von 99 µg/Tag langfristig nicht unerheblichen Kosten und die schwierige Beschaffbarkeit der nicht im Handel befindlichen Calcitriol-Lösung.
- Vorausblickend auf die Heimkehr des Patienten in die arabischen Emirate schien eine Vitamin D₃-Therapie sinnvoller. Wegen der dort oft schlechten Compliance der Patienten wird die Rachitis-Prophylaxe in der Regel als Stoßtherapie durchgeführt. Deswegen ist es dort einfacher, hochdosierte Vitamin D-Präparate mit einigen 100 000 I.E. pro Tablette zu erhalten.

Die D₃-Tagesdosis betrug zunächst 4,8 Mio. I.E. und wurde dann auf 10,2 Mio. erhöht. Hinsichtlich der Größenordnung der Dosis orientierten wir uns an bisher angegebenen Maximaldosen bei VDAR II-Patienten (siehe Tab. 7); die höchsten Vitamin D-Tagesdosen, bei denen ein Therapieerfolg erzielt wurde, lagen zwischen 3 und 7 Mio. I.E.

Die Besserung der Laborwerte unter dieser Therapie in Abschnitt VI war frappierend. Kalzium 2,26 mmol/l (n = 11), alkalische Phosphatase 1 363 U/l (n = 11), PTH 0,83 ng/ml (n = 4). Damit waren Serumkalzium und Parathormon zum ersten Mal innerhalb des Normbereichs. Nur der Phosphatwert blieb mit 0,8 mmol/l unverändert. Bemerkenswert hinsichtlich des Phosphatstoffwechsels ist allerdings die Tatsache, daß sich die Phosphatausscheidung im Morgenurin von Werten um 30 mmol/l in den Abschnitten III und IV (siehe Tab. 21b) im Abschnitt VI auf 3,3 mmol/l (n = 5) reduzierte. Die Ursache für diese Besserung ist wahrscheinlich in der Normalisierung des Parathormonserumspiegels zu finden.

Obwohl die deutliche Besserung innerhalb der ersten fünf Tage nach Beginn der Kalziuminfusion begonnen hatte und sich unter der Infusion weiter fortsetzte, ist die Frage, ob sie allein auf die Kalziuminfusion zurückzuführen ist oder ob die nach wie vor durchgeführte hochdosierte Calcitrioltherapie mit zu dieser Besserung beigetragen haben

könnte, nicht mit letzter Sicherheit zu beantworten. Zwei Tatsachen machen es schwierig, eine eindeutige Antwort zu finden:

- Die Gleichzeitigkeit der therapeutischen Maßnahme macht eine eindeutige zeitliche Zuordnung von Befundänderungen zu einer der beiden Therapien unmöglich.
- Die Zuordnung von Befundänderung und Therapie über einen chronologischen Zusammenhang ist bei unserem Patienten wegen des verzögerten Eintretens der Wirkung einer Kalziferol-Therapie zusätzlich erschwert. So könnte die in unserem Fall aufgetretene Verbesserung der Laborwerte von Ende September 84 ohne weiteres mit der Verdreifachung der Calcitrioltagesdosis (von 25 auf 66 µg) in der Zeit von Ende August/Anfang September zusammenhängen.

Trotz dieser Einschränkungen sprechen gewichtige Argumente für einen Zusammenhang der plötzlichen Besserung mit den Kalziuminfusionen. Es wäre mehr als unwahrscheinlich, daß die Wirkung der Vitamin D-Therapie einerseits mit einer großen Verzögerung, andererseits aber doch innerhalb weniger Tage vor sich gehen sollte. Auch im weiteren Verlauf der Diskussion ergeben sich bei kritischer Würdigung Argumente, die diese Hypothese unterstützen. In der Zwischenzeit wurde ein Bericht über einen anderen VDAR II-Patienten veröffentlicht (BALSAN et al. 1986), bei dem eine Kalziuminfusion ebenfalls positive Wirkungen hatte. Dieser Fall wird in Kapitel 7.2.2 diskutiert.

In Abschnitt VII setzten wir die Vitamin D₃-Therapie ab und therapierten die Rachitis des Patienten nur noch durch intravenöses Kalzium.

Es ist dabei anzumerken, daß die 1,25(OH)D-Serumwerte (siehe Tab. 20) trotz des Absetzens der Therapie im Nanogrammbereich verblieben. Am 19. Januar 1985, zwei Monate nach Ende der Vitamin D₃-Therapie lag der 1,25(OH)D-Serumspiegel immer noch größer als 2 000 pg/ml, d. h. in der gleichen Größenordnung wie unter Therapie im September

1984. Dies ist wahrscheinlich auf die langen biologischen Halbwertszeiten (siehe Tab. 2) von Vitamin D und 25(OH)D zurückzuführen. Sie ermöglichen es, daß auch nach zwei Monaten immer noch ausreichend Substrat für die Herstellung der Wirkform 1,25(OH)D zur Verfügung steht. Diese Tatsache ist von großer Bedeutung, weil damit alle Befundänderungen des Patienten in dieser Zeit nicht von einer Veränderung des 1,25(OH)D-Serumspiegels herrühren können.

In Abschnitt VII führten wir die kontinuierliche Kalziuminfusion mit Tagesdosen von 600 mg fort. Die Serumwerte von Kalzium, Phosphat und Parathormon blieben gegenüber dem Abschnitt VI unverändert. Bei der alkalischen Phosphatase stellte sich eine weitere Besserung auf 940 U/l (n = 8) ein. Die Phosphaturie im Morgenurin (Tab. 21b) verringerte sich weiter auf 0,59 mmol/l (n = 7). Der Kalziumkreatininquotient lag mit 0,64 (n = 7) an der oberen Normgrenze. Es lag aber keine Hyperkalziurie vor.

In Abschnitt VIII reduzierten wir die kontinuierliche Kalziuminfusion schrittweise auf Null. Dies sollte klären helfen, ob die Besserung des Patienten von der Kalziuminfusion abhängig war. Da bei einigen anderen VDAR II-Patienten eine Spontanremission zu diskutieren ist (siehe Kapitel 7.5.2), wollten wir überprüfen, ob und wie lange die Besserung des Patienten nach Absetzen der Kalziuminfusionen anhalten würde.

Unter der schrittweisen Reduktion der infundierten Kalziummenge blieb das Serumkalzium und die alkalische Phosphatase gleich. Eine leichte Erhöhung des PTH auf 1,46 pmol (n = 1) deutete darauf hin, daß der Kalziumbedarf des Patienten nun nicht mehr vollständig aus der Infusion gedeckt wurde und wieder vermehrt auf die Knochendepots zurückgegriffen werden mußte. Bemerkenswert ist auch das Ansteigen des Serumphosphats auf 1,1 mmol/l (n = 10) ohne orale Phosphatsubstitution. Dieser Wert ist relativ schwierig zu interpretieren, weil die Phosphatkonzentration im Serum durch verschiedene Vorgänge beeinflußt wird:

Die orale Zufuhr, die PTH-regulierte renale Ausscheidung und die Skelettmineralisation.

Für den Verlauf der Serumspiegel bei unserem Patienten sind folgende Erklärungen wahrscheinlich:

- In Abschnitt II war der Serumspiegel wegen der vermehrten oralen Zufuhr gestiegen.
- In Abschnitt III kehrte der Wert trotz fortgesetzter Substitution zum Ausgangswert zurück. Dabei spielte der verstärkte Hyperparathyreoidismus und die konsekutiv vermehrte renale Ausscheidung eine Rolle (siehe Tab. 21b).
- In den Abschnitten VI und VII, unter Kalziuminfusion und nach Absetzen des oralen Phosphats, war der Bilanzgewinn durch den Rückgang der renalen Ausscheidung (Tab. 21b) nach Normalisierung des PTH offenbar gleich groß wie der Verlust durch die verminderte Zufuhr einerseits und den vermehrten Verbrauch zur Remineralisierung des Knochens anderseits.
- In Abschnitt VIII könnte sich die Mineralisierung durch die Verminderung der Kalziuminfusionen verlangsamt haben. Dadurch wird weniger Phosphat im Knochen deponiert. Gleichzeitig ist durch den gegenüber den Ausgangswerten deutlich gesunkenen Parathormspiegel die Phosphaturie etwa um den Faktor 8 auf 4,9 mmol/l ($n = 4$; Tab. 21b) im Morgenurin gefallen. Die verminderte Phosphatdeponierung im Skelett und die verminderte Phosphaturie könnten den Anstieg des Serumphosphats an die untere Normgrenze erklären.

Der Kalziumkreatininquotient sank unter den verminderten Kalziuminfusionen auf 0,29 ($n = 4$; Tab. 21b).

Abschnitte IX bis XI - Remissionstest

Während dieser Zeit wurden keine Kalziuminfusionen durchgeführt. Wir gaben nur 1 - 2 g Kalzium pro Tag oral. Ab März 1985 wurde zusätzlich eine Vitamin D₃-Therapie von 200 - 400 000 I.E. durchgeführt.

In dieser Zeit blieb das Serumkalzium mit Mittelwerten zwischen 2,19 und 2,32 mmol/l in etwa gleich. Die Verschlechterung der Rachitis zeigte sich vor allem im Wiederanstieg der alkalischen Phosphatase von 940 (n = 8, VII) auf 1638 (n = 7, XI) und einen ebenfalls deutlichen Anstieg des Parathormons auf Werte von 2,10 und 2,19 ng/ml (XI). Diese Verstärkung des sekundären Hyperparathyreoidismus dürfte auch das langsame Wiederabsinken des Serumphosphates von 1,1 (n = 10; VIII) auf 0,9 mmol/l (n = 6; XI) verursacht haben. Dafür spricht auch das Wiederansteigen der Phosphaturie mit Werten zwischen 20 und 32 mmol/l im Morgenurin (IX - XI; Tab. 21b).

Die Kalziurie nimmt weiter ab: Der Kalziumkreatininquotient sinkt kontinuierlich bis auf Werte um 0,1 (XI) ab.

Auch hier muß darauf hingewiesen werden, daß die Wiederverschlechterung der Befunde nicht durch das vorübergehende Absetzen der Vitamin D-Therapie verursacht worden sein kann, da im April 1985 mit 7 484 µg/ml der höchste 1,25(OH)D-Serumwert bei unserem Patienten gemessen wurde.

Aus dem Remissionstest der Abschnitte IX - XI ließen sich zwei Schlüsse ziehen:

- Es hatte sich deutlich gezeigt, daß bei unserem Patienten keine Remission aufgetreten war, sondern daß er weiterhin therapiebedürftig blieb.
- Mit großer Wahrscheinlichkeit hing die Besserung des Patienten mit der Kalziuminfusion zusammen: Aus der Kalziferoltherapie bzw. den 1,25(OH)D-Serumspiegeln und dem Verlauf der Rachitisparameter läßt sich kein sinnvoller Zusammenhang konstruieren. Demgegenüber besteht eine deutliche zeitliche Korrelation zwischen dem Beginn und dem Absetzen der Kalziuminfusion und der Besserung bzw. Verschlechterung der Befunde.

Deshalb beschlossen wir, erneut mit Kalziuminfusionen zu beginnen.

Abschnitte XII und XIII - Intermittierende Kalziuminfusionen

Da die kontinuierliche Kalziuminfusion auf die Dauer nicht praktikabel war, entschlossen wir uns zu einer intermittierenden Therapie.

Als Kalziumdosis pro Infusion wählten wir 100 ml 10%ige Kalziumlösung entsprechend 920 mg elementarem Kalzium (90 mg Ca/kg KG und Infusion). Unter Kalziumdosen dieser Größenordnung hatte der Patient während der Dauerinfusion keine Hyperkalzämie gezeigt. Wir applizierten die Dosis in 12 Stunden, um den Patienten durch eine nächtliche Infusion tagsüber nicht in seiner Bewegungsfreiheit einzuschränken.

Als Intervall zwischen den Infusionen wählten wir einen Monat. Der Hauptgrund für dieses sehr große Intervall war die Situation des Patienten nach seiner Heimkehr in die Emirate: Erfahrungen mit arabischen Patienten hatten gezeigt, daß diese besonders bei komplizierten, aufwendigen und belastenden Therapien sehr dazu neigten, diese zu Hause abubrechen und eher eine Verschlechterung und sogar einen letalen Ausgang in Kauf zu nehmen als die Therapie fortzusetzen.

Zunächst führten wir vom 27. Juli bis 10. August 1985 eine 14tägige Dauerinfusion mit 920 mg elementarem Kalzium pro Tag durch, um den durch die sechsmonatige Infusionspause entstandenen Mangelzustand (sekundärer Hyperparathyreoidismus!) zu beheben. Dann setzten wir die Behandlung alle vier Wochen mit 12stündigen Infusionen von 920 mg Kalzium fort. Unter den intermittierenden Infusionen war es nicht mehr sinnvoll, die Laborwerte des Patienten wie in den Abschnitten I - XI als Mittelwerte über den gesamten Zeitraum zusammenzufassen. Eine Aufteilung der Laborwerte auf zwei Gruppen schien diesem zyklischen Verlauf am besten Rechnung zu tragen: Es wurden die Werte aus der ersten Hälfte des Zyklus (XII a; 2 bis 12 Tage nach der

Infusion) denen der zweiten (XII b; 14 bis 30 Tage nach Infusion) gegenübergestellt. Beim Vergleich von XII a und XII b zeigt sich deutlich der positive Effekt der Kalziuminfusion: PTH sank von 2,19 (XI) auf 0,74 (XII a) ng/ml (s. Tab. 18). Dieser Wert im Normalbereich zeigt, daß die Infusion den Kalziumbedarf des Patienten - zumindest vorübergehend - gedeckt hat. Gegen Ende des infusionsfreien Intervalls stiegen die PTH-Werte wieder auf 1,71 bzw. 1,44 ng/ml an (XII b). Dies deutet darauf hin, daß der Kalziumserumspiegel des Patienten am Ende des infusionsfreien Intervalls nur über Freisetzung von Mineral aus dem Knochendepot mittels sekundärem Hyperparathyreoidismus aufrecht erhalten werden konnte.

Der Verlauf der alkalischen Phosphatase zeigte das gleiche Phänomen: Mit 588 U/l (XII a; n = 4) kurz nach den Infusionen im Normalbereich, stieg die AP in der zweiten Hälfte wieder auf 1 332 U/l (XII b; n = 4) an (Tab. 18). Der Kalziumserumwert stieg leicht von 2,18 (XII a; n = 4) auf 2,33 mol/l (XII b; n = 4) an. Diese unerwartete Tatsache ist wahrscheinlich auf die bei unserem Patienten sehr stark ausgeprägte PTH-Wirkung zurückzuführen. Es sei nochmals daran erinnert, daß der Patient bei Aufnahme mit völlig demineralisiertem Skelett noch niedrignormale Kalziumspiegel aufrecht erhalten konnte.

Insgesamt führten wir bis zur Entlassung drei Kurzinfusionen durch. In dieser Zeit stellte sich diese Therapieform als gut für den Patienten geeignet heraus. Die dargestellten Schwankungen von PTH und AP im Rythmus der Infusionen war ein weiterer Hinweis darauf, daß intravenöses Kalzium eine effektive Therapie der Erkrankung war.

Da der Patient in Abschnitt XII ohne Änderung täglich 400 000 I.E. D₃ erhielt, konnte kein Zusammenhang zwischen dem zyklischen Verlauf der Laborparameter und dieser Vitamin D-Therapie bestehen. Wir hielten die im Verhältnis zu den Maximaldosen (10,2 Mio. I.E./Tag) relativ niedrig dosierte D₃-Gabe dennoch für sinnvoll, da sich bei anderen VDAR II-Patienten im Kleinkindalter offensichtlich die

Empfindlichkeit für 1,25(OH)D verbessert hatte (siehe Kapitel 7.5.2). Für diesen Fall sollte der Patient so mit Vitamin D versorgt sein, daß eine solche Remission sichtbar werden könnte.

Die Therapie mit vierwöchigen Kalziuminfusionen wurde in den Vereinigten Arabischen Emiraten unverändert fortgesetzt, die tägliche D₃-Dosis auf 200 000 I.E. reduziert.

Dr. Wettrell aus dem Tawam Hospital, Al Ain, sandte uns die Laborwerte eines sechsmonatigen Zeitraums dieser Therapie zu. Der Patient wurde vierwöchentlich jeweils für eine Nacht hospitalisiert. Jeweils vor und nach der Infusion wurde Blut abgenommen. Die entsprechenden Laborwerte sind in Tab. 18 (XIII) aufgeführt. Wie in XII wurden die Werte nach den Infusionen (XIII a) und vor der nächsten (XIII b, 30 Tage nach der letzten Infusion) zusammengefaßt.

Die Serumspiegel von Kalzium und AP sind in XII und XIII in etwa gleichgeblieben, Phosphat (0,7 mmol/l; n = 7) und PTH (1,88 ng/ml; n = 4) haben sich geringgradig verschlechtert.

Sechs Monate nach der Heimkehr des Patienten kann man also von einem in etwa stabilen Zustand, aber keinesfalls von einer Heilung des Patienten sprechen. Es bleibt die Frage offen, durch welche therapeutischen Maßnahmen die Rachitis des Patienten weiter gebessert werden könnte.

Während der schrittweisen Reduzierung der kontinuierlichen Kalziuminfusion Ende 1984 fiel auf, daß die Phosphatausscheidung im Morgenurin bis zu einer täglichen Kalziumdosis von 330 mg (entsprechend 40 mg Ca/kg KG und Tag) konstant unter 1,6 mmol/l lag. Bei einer weiteren Verminderung der Dosis stieg sie sprunghaft auf Werte zwischen 17 und 40 mmol/l an. Der Tagesbedarf an infundiertem Kalzium scheint also bei unserem Patienten in der Größenordnung von 40 mg/kg KG zu liegen. Um diese Kalziumdosis in intermittierenden Infusionen zu geben, wären zweimal pro Woche 120 ml 10 %ige Kalziumlösung erforderlich. Wir haben

diese Zahlen den Ärzten im Tawam Hospital mitgeteilt und müssen nun abwarten, ob diese Therapie unter den dortigen Umständen realisiert werden kann.

Zwei Autoren haben bei VDAR II-Patienten einen erfolglosen Versuch mit intravenösem 1,25(OH)D gemacht (LIBERMAN et al. 1980 und BEER et al. 1981). Dies ist nicht überraschend, wenn man bedenkt, daß VDAR II auf einem Rezeptordefekt und nicht auf einer intestinalen Absorptionsstörung für Kalziferole beruht. Bei keinem Patienten wurde bisher ein inadäquat geringes Ansteigen des 1,25(OH)D-Serumspiegels bei oraler Kalziferoltherapie beobachtet. Nur in einem solchen Fall wäre eine 1,25(OH)D-Infusion indiziert.

7.1.2 Osteokalzin

Osteokalzin ist als Vitamin D-abhängiger Parameter ein wichtiger Indikator für eventuelle Wirkungen einer Kalziferoltherapie. Nach einem Überblick über den derzeitigen Wissensstand folgt die Diskussion der bei A. M. gemessenen Serumwerte.

Osteokalzin ist ein nichtkollagenes Knochenprotein, aus 49 Aminosäuren mit einem Molekulargewicht von 5800 Dalton (POSER et al. 1980). Es wurde 1975 entdeckt und zunächst "vitamin K dependent calcium binding protein" und "bone gla (gamma carboxy-glutamic acid) protein" genannt. Die im Oc enthaltene gla entsteht in einer Vitamin K-abhängigen Reaktion aus Glutaminsäure.

Die genaue Funktion von Oc ist unbekannt; es gibt Hinweise, daß es über eine Erhöhung des Löslichkeitsprodukts von Kalzium und Phosphat in den Mineralstoffwechsel des Knochens eingreift (PRICE et al. 1976). Oc wird in Osteoblasten gebildet, in die extrazelluläre Knochenmatrix eingelagert, gelangt in geringen Mengen ins Blut und wird renal ausgeschieden (PRICE et al. 1981). Es wurde gezeigt, daß Oc (beim Nierengesunden) ein sensitiver Parameter für

die Osteoblastenaktivität bei verschiedenen Knochenerkrankungen wie M. Paget, Osteoporose und Rachitis (Übersicht bei KRUSE et al. 1986) ist.

Gegenüber der alkalischen Phosphatase ist die Spezifität von Oc für den Knochenstoffwechsel größer. Die AP ist in den Zellen des ganzen Organismus beheimatet und kann außer bei erhöhter Osteoblastentätigkeit noch bei Erkrankungen des Leberparenchyms, der Gallenwege, bei Tumoren und während der Schwangerschaft erhöht sein. Zur Differenzierung der Herkunft der AP ist eine Bestimmung der Isoenzyme erforderlich.

Bei Gesunden ist die Korrelation der Serumspiegel von Oc und AP gut. Oc und AP liegen im Wachstum höher als bei Erwachsenen (siehe Tab. 38).

Tabelle 38: Osteocalcin (Oc) und alkalische Phosphatase (AP) in Abhängigkeit vom Alter (KRUSE et al. 1986)

Alter	Oc (ng/ml)	AP (U/l)
0,1 - 14,9 Jahre (n = 64)	7,7 - 15,3	160 - 523
15,0 - 17,9 Jahre (n = 11)	4,3 - 9,3	103 - 249
18,0 - 40,0 Jahre (n = 13)	2,6 - 5,2	48 - 122

Die Entwicklung eines Radioimmunoassays (PRICE et al. 1980) bewirkte eine rasche Verbreitung der Oc-Bestimmung.

Eine Reihe von Untersuchungen weist auf eine Beeinflussung der Oc-Produktion durch 1,25(OH)D hin:

- 1,25(OH)D stimuliert die Oc-Synthese in Osteosarkomzelllinien (PRICE 1984).

- Bei Patienten mit Hyperparathyreoidismus und Pseudo-hyperparathyreoidismus ist Oc vor Therapie niedrig und normalisiert sich unter 1,25(OH)D-Therapie trotz unverändert fehlender Parathormonwirkung (PRICE et al. 1980, KRUSE et al. 1986).
- Bei Vitamin D-Mangelrachitis, familiärer hypophosphatämischer Rachitis und VDAR I ist Oc niedrig-normal trotz sekundärem Hyperparathyreoidismus und erhöhtem Knochenumsatz und steigt unter Vitamin D-Therapie in den hoch-normalen Bereich (Tab. 39).

Os scheint also vor allem ein Indikator der Vitamin D-abhängigen Osteoblasten-Funktion zu sein. Es ist deshalb von Interesse, wie sich Oc bei unserem Patienten mit dem hochgradigen 1,25(OH)D-Rezeptordefekt verhält (siehe Tab. 19). Erwartungsgemäß lag der Serumspiegel vor Therapie (II) mit 2,8 ng/ml sehr niedrig.

Tabelle 39: Osteokalzin (in ng/ml) bei rachitischen Kindern vor und während Kalziferoltherapie

Angegeben werden die Normalwerte des jeweiligen Labors und in Klammer die Zahl der untersuchten Patienten. * Daten unseres Patienten enthalten.

	Vor Therapie		Unter Therapie		Normbereich	Autoren	
VDMR	2,1-16,8 7,5	(6) (1)	11,5-25,0 88,0	(4) (1)	7,7 - 15,3 24,4+/-12,5	Kruse Greig	et al. 1986 et al. 1986
FHR	<1,0-49,0	(4)	5,0-68,0	(4)	6,0 - 38,0	Gundberg	et al. 1983
	6,2-11,2	(3)	9,3-18,5	(5)	7,7 - 15,3	Kruse	et al. 1986
	10,7	(1)	47,0	(1)	24,4+/-12,5	Greig	et al. 1986
VDAR I	35,0-66,0	(3)	130 - 300	(3)	6,0 - 38,0	Gundberg	et al. 1983
	5,5	(1)	38,5	(1)	24,4 + 12,5	Greig	et al. 1986
VDAR II	2,8*	(1)	6,4- 6,6*	(3)	7,7 - 15,3	Kruse	et al. 1986
	3,3	(2)	33,6-41,7	(2)	24,4+/-12,5	Greig	et al. 1986

Unter hochdosierter Kalziferoltherapie (III/IV; 10,7 ng/ml; n = 4) und während der kontinuierlichen Kalziuminfusion (VI - VIII, 11,5 ng/ml; n = 7) lag Oc im Normbereich (Tab. 19).

Es stellt sich die Frage, ob die Normalisierung der Werte ein Indiz für eine Vitamin D-Wirkung am Patienten sein könnten. Folgende Antworten sind denkbar:

- Eine rezeptorvermittelte 1,25(OH)D-Wirkung scheint aufgrund anderer Befunde des Patienten (Fibroblastenkultur, Verlauf der Erkrankung) eher unwahrscheinlich.
- Eine 1,25(OH)D-Rezeptor-unabhängige Vitamin D-Wirkung ist nicht auszuschließen.
- Es ist denkbar, daß auch andere, bisher nicht erkannte Faktoren die Oc-Serumspiegel beeinflussen.
- Eine Beeinflussung von Oc durch PTH ist bei unserem Patienten aufgrund des Verlaufs (Tab. 19) wenig wahrscheinlich. Auch die Beobachtungen von KRUSE et al. 1986 an Patienten mit gestörtem PTH-Stoffwechsel sprechen gegen einen solchen Zusammenhang.

Es ist unklar, warum sich der Oc-Serumspiegel bereits unter alleiniger Kalziferoltherapie (III/IV) normalisiert, obwohl sich Klinik, Labor und Radiologie des Patienten in diesem Zeitraum eher verschlechterten.

In der Phase des Remissionstests (IX - XI), als sich die Rachitis des Patienten wieder deutlich verschlechterte, ist sogar ein Anstieg des Oc auf erhöhte Werte (17,6; n = 3) zu beobachten. Diese Anstiege kamen unerwartet, da bei rachitischen Patienten eher erniedrigte Oc-Werte vorliegen. Es wäre denkbar, daß bei der schweren Erkrankung unseres Patienten in Phasen der Verschlechterung die Entmineralisierung des Knochens so rasch vor sich ging, daß im Osteoid befindliches Oc in wesentlich höherem Ausmaß ins Serum gelangte als bei anderen Patienten. Auch der erniedrigte Einzelwert von 5,6 ng/ml unter intermittierender Kalziuminfusion (XII b) war überraschend.

Ein Vergleich mit den Oc-Werten anderer rachitischer Kinder (Tab. 39) zeigt dreierlei:

- Die stark differierenden Normalwerte zeigen, daß noch keine einheitlichen Bestimmungsmethoden verwendet werden.
- Bei allen vier aufgeführten rachitischen Erkrankungen liegen kleine Fallzahlen und große individuelle Schwankungen der Oc-Serumspiegel vor und während Therapie vor. Eine eindeutige Interpretation der Werte ist kaum möglich.
- Insgesamt zeigt sich aber unter Therapie eine Tendenz zu hochnormalen bzw. erhöhten Oc-Werten, die wohl den gesteigerten Knochenumsatz in der Abheilungsphase reflektieren.

Ein solcher deutlicher Anstieg der Werte trat in der Phase der Besserung (VI - VIII) bei unserem Patienten jedenfalls nicht auf.

Zusammenfassend kann man sagen, daß der Verlauf des Oc-Serumspiegels unter Therapie bei unserem Patienten mehr Fragen aufwirft als beantwortet. Es bedarf sicherlich noch intensiver Arbeit, bis die Bedeutung von Osteokalzin geklärt werden kann. Zellkulturen von schwer erkrankten VDAR II-Patienten bieten möglicherweise einen Ansatz, die Bedeutung des 1,25(OH)D-Rezeptors für den Oc-Stoffwechsel zu untersuchen. Auch für Studien über die eventuellen Einflüsse anderer Faktoren auf Osteokalzin bieten sich diese Zellen geradezu an. Es bleibt zu hoffen, daß durch solche Forschung in Zukunft eine klarere Interpretation dieses vielversprechenden Knochenstoffwechselparameters ermöglicht wird.

7.1.3 Parathormonabhängige Laborparameter

Tubuläre Phosphatrückresorption (TRP)

Die TRP gibt den prozentualen Anteil des Phosphats im Primärharn an, der tubulär rückresorbiert wird. Da PTH die Phosphatrückstände maßgeblich reguliert, ist TRP zur Verlaufskontrolle eines Hyperparathyreoidismus geeignet. Einschränkung muß gesagt werden, daß TRP von der P-Zufuhr beeinflusst wird.

Bei unserem Patienten zeigt ein Vergleich von gleichzeitig bestimmten PTH- und TRP-Werten eine gute Korrelation (Tab. 19).

Tubuläres Transportmaximum für Phosphat ($TmPO_4$)

Das $TmPO_4$ gibt den Maximalwert der pro Zeiteinheit rückresorbierten Menge tubulär angebotenen Phosphats an. Es ist noch geeigneter zur Verlaufskontrolle eines Hyperparathyreoidismus, da es von der P-Zufuhr in der Nahrung unabhängig ist. Auch $TmPO_4$ korreliert gut mit den jeweiligen PTH-Werten (Tab. 19). In den Abschnitten II bis V, also vor Therapie und unter alleiniger, hochdosierter Kalziferyltherapie, lagen die Werte mit 0,4 bis 0,6 mmol/l unter dem Serumphosphatspiegel und verdeutlichen so den enormen renalen Phosphatverlust.

Unter der Kalziuminfusion (VI bis VIII) stiegen die Werte dann bis auf 1,6 mmol/l und machen anschaulich, warum das Serumphosphat in VIII bis auf 1,1 mmol/l ($n = 10$; Tab. 18) steigen konnte.

cAMP im Urin

PTH stimuliert die Adenylatzyklase; die steigenden cAMP-Spiegel lösen dann die PTH-typischen Effekte aus.

Die cAMP-Ausscheidung im Urin ist ein Parameter für die PTH-Wirkung (AURBACH et al. 1971). Sie wird auf die glomeruläre Filtrationsrate bezogen, da sie von der Nierenfunktion abhängt.

Bei unserem Patienten zeigten PTH und cAMP gleichsinnige Schwankungen. Seine cAMP-Werte lagen immer über dem Normbereich, näherten sich aber diesem während der Kalziuminfusion (VI, Tab. 19).

Die erhöhten Werte sind in Einklang mit dem starken PTH-abhängigen Skelettentmineralisierung, die bei dem Patienten unter ungenügender Kalziumversorgung auftritt.

Hydroxyprolin im Urin

OH-Prolin ist fast ausschließlich in Kollagen gebunden. Mehr als 50 % des Gesamtkollagens des Organismus sind im Knochengewebe enthalten. Die OH-Prolinausscheidung im Urin ist ein wichtiger Parameter für den Umsatz der Knochenmatrix (BURKHARD et al. 1976). Wegen ihrer Abhängigkeit von der Nierenfunktion wird der Wert auf die Kreatininausscheidung bezogen. Die Werte unseres Patienten (Tab. 19) schwanken gleichsinnig mit dem Serum-PTH und dem Urin-cAMP und zeigten klar den stark erhöhten Knochenumsatz des Patienten. Es fällt allerdings auf, daß OH-Prolin auch während der kontinuierlichen Kalziuminfusion (VI - VIII), als PTH und cAMP sich fast normalisierten, mehr als vierfach über der Norm lag. Dies ist möglicherweise auf vermehrte Skelettmineralisation und -wachstum in diesem Zeitraum zurückzuführen, könnte aber auch bedeuten, daß die fehlende Vitamin D-Wirkung eine Normalisierung des Knochenumsatzes verhindert.

7.2 Skelettbefunde

Es wird der Verlauf von Knochendichte (BMC) und radiologischen Befunden im Zusammenhang mit den therapeutischen Maßnahmen diskutiert. Im Vordergrund stehen zwei Fragen:

- Welcher Therapieform - hochdosierte Kalziferole oder Kalziuminfusion - ist die Besserung des Patienten zuzuschreiben?
- Lassen sich klare Aussagen über die Vitamin D-Abhängigkeit bestimmter Skelettsymptome bei Rachitis treffen?

7.2.1 Knochendichte (BMC)

Erstmal's werden hier BMC-Messungen an einem VDAR II-Patienten veröffentlicht. Aus der Literatur ist zu ersehen, daß die Bestimmung des Bone Mineral Content (BMC) mit Gadolinium¹⁵³ bei Erwachsenen immer häufiger routinemäßig verwendet wird. Sie bietet eine quantitative Erfassung der Skelettmineralisation mit hoher Präzision bei sehr geringer Strahlenbelastung.

Vergleichbare Methoden erlauben entweder nur eine ungenaue Schätzung des Mineralgehalts (Röntgenbilder; DAHLEN et al. 1974) oder führen eine unvertretbar hohe Strahlenbelastung mit sich (Bestimmung des Kalziumgehalts der LWS mit Neutronenaktivierungsanalyse, beschrieben von COHN et al. 1970 und AL-HITI et al. 1976).

Bei der dualen Photonenabsorptionsmetrie werden die Störgrößen Weichteilgewebe und Fett durch den Vergleich der Absorption der beiden unterschiedlich energiereichen Photonen eliminiert (KRØLNER et al. 1980). Diese Methode ist deshalb der Messung von Photonen nur eine Energieklasse (CHRISTIANSEN et al. 1977) überlegen.

Bei Kindern liegen erst wenige Veröffentlichungen über BMC-Messungen vor (BIANCHI et al. 1985). Grundsätzlich gilt wohl das Obengesagte auch hier, da die Methodik bis

auf die etwas stärkere Kollimierung des Meßstrahls identisch ist. Bei den Messungen an Erwachsenen hat man die Größe der Einheit so gewählt, daß sie ohne Umrechnung als Gramm Hydroxylapatit angegeben werden kann. Durch die Änderung der Kollimierung ist dieser Umstand bei Kindern nicht gegeben, so daß in unserem Fall als Benennung des BMC Unit (U) besser geeignet ist.

Bei Erwachsenen wird die Messung des BMC vor allem bei seniler Osteoporose durchgeführt. Dabei erlaubt die Bestimmung des Mineralgehalts eine Quantifizierung der Osteopenie, eine Abschätzung des Frakturrisikos und die Kontrolle von Verlauf und Therapieerfolg.

Es zeigte sich hierbei, daß der Mineralisationsverlust in trabekulären Knochenstrukturen stärker ausgeprägt ist als in kortikalen. Dies ist sowohl bei der senilen als auch bei der steroidtherapieinduzierten Osteoporose der Fall. Die Entmineralisierung ist am stärksten in der Lendenwirbelsäule, die überwiegend aus trabekulärem Knochen besteht, weniger ausgeprägt am Oberschenkelhals, der aus trabekulärem und kortikalen Elementen besteht und am geringsten am Oberschenkelschaft, der überwiegend aus Kortikalis besteht. Es ist daher einleuchtend, daß der BMC der LWS den besten Parameter für Osteoporose und damit pathologische Wirbelkompressionsfrakturen darstellt (RIGGS et al. 1981). Deshalb werden BMC-Messungen bei Erwachsenen an der LWS durchgeführt. Naturgemäß - die Patienten sind meist über 50 Jahre alt - ist die Strahlenbelastung von Gonaden und Knochenmark nur von geringer Bedeutung.

Für Kinder liegen bisher keine photonenabsorptiometrischen Studien über eventuelle Unterschiede der Mineralisationsentwicklung in trabekulären und kortikalen Knochen während des Wachstums vor. Es wäre deshalb durchaus denkbar gewesen, die Messungen an unserem Patienten über einer weniger strahlensensiblen Region - etwa an den Extremitäten - durchzuführen, um die bei Kindern relevantere Strahlenbelastung zu reduzieren. Die nuklearmedizinische Abteilung des Universitätsklinikums Rechts der Isar hat aufgrund der

obengenannten Vorteile die Messungen bei Erwachsenen nur an der LWS durchgeführt; es lagen keine Erfahrungen mit den Meßmethoden in anderen Körperregionen vor. Um die methodischen Unwägbarkeiten - fehlende Normalwerte bei Kindern und Auswirkung der stärkeren Kollimierung des Meßstrahls - nicht noch weiter durch die Wahl der Meßregion zu erhöhen, entschlossen wir uns, die Bestimmungen an der LWS vorzunehmen.

Die Messung des Bone Mineral Content durch die duale Photonenabsorptiometrie ermöglicht einen großen Fortschritt für Verlaufsbeobachtung von Mineralisationsstörungen auch bei Kindern:

- 1) Die Strahlenbelastung des Patienten liegt wesentlich niedriger als bei Verlaufskontrollen durch die gleiche Anzahl von Röntgenbildern.
- 2) Die gewonnenen Daten erlauben eine exakte Quantifizierung der Mineralisation und somit eine genauere Steuerung der Therapie.
- 3) Es ist ein lohnendes Ziel für weitere Untersuchungen, ob die Messungen nicht ohne Verlust an Aussagekraft auf weniger strahlensensible Körperregionen verlegt werden können.

Werte des Patienten

Leider liegt uns kein Ausgangswert vor Beginn der Kalziuminfusion vor. Selbst 6 Wochen nach Beginn der Infusion liegt der lineare Mittelwert unseres Patienten, der damals 26 Monate alt war, mit 0,52 U/cm bei nur 40 % eines mit 15 Monaten wesentlich jüngeren Vergleichskindes. Rechnet man den durchschnittlichen wöchentlichen Zuwachs von 6,4 % (Tab. 35) in der folgenden Zeit für die ersten 6 Wochen zurück, so kann man den linearen Mittelwert vor Therapie um etwa 38 % niedriger ansetzen; dies entspräche sogar nur etwa 25 % des Vergleichskindes. Obwohl keine Normalwerte von einer größeren gleichaltrigen Kontrollgruppe vorliegen, kann man sicherlich feststellen, daß bei A. M. das Skelett extrem demineralisiert war.

Ein Jahr später, kurz vor der Entlassung, hatte sich der absolute BMC mehr als vervierfacht, der lineare Mittelwert mehr als verdreifacht.

Die Zuwachsraten des absoluten BMC zeigen die Auswirkungen der unterschiedlichen Therapieformen. Zwischen der ersten und zweiten Messung erhielt der Patient kontinuierliche Kalziuminfusionen. Der wöchentliche Zuwachs des Knochenmineralgehalts betrug durchschnittlich 6,3 %.

Zwischen der zweiten und dritten Messung erhielt der Patient 1 bis 2 Gramm Kalzium per os pro Tag, aber keine Infusionen. Der wöchentliche Mineralisationszuwachs sank deutlich auf 2,4 % ab.

Unter den intermittierenden Kalziuminfusionen stieg der BMC-Zuwachs wieder auf 3,1 % pro Woche und spiegelt so die bessere Kalziumversorgung des Körpers wieder. Die Tatsache, daß der Zuwachs weniger als halb so groß als unter der kontinuierlichen Infusion ist, läßt vermuten, daß die Dosierung der intermittierenden Kalziuminfusionen nicht optimal ist. Es wäre aber auch denkbar, daß das Mineralisationsdefizit des Patienten nun nicht mehr so groß ist wie am Anfang der Behandlung und daß deshalb die Zuwachsraten dieser Zeit nicht mehr erreicht werden können. Aus der Tatsache, daß der Patient im Alter von nunmehr 38 Monaten erst knapp den Mineralisationswert des 15monatigen Vergleichskindes übertroffen hatte (linearer Mittelwert des Patienten 1,65, der Kontrolle 1,30 U/cm) und größtmäßig immer noch unter der dritten Perzentile lag, kann man sicher auf einen immer noch stark erhöhten Mineralisationsrückstand schließen. Leider liegen aus den erwähnten Gründen keine Daten über den Mineralisationszuwachs bei gesunden Kleinkindern vor, die eine fundiertere Beurteilung der Zuwachsraten des Patienten ermöglichen würden.

Ein positiver Einfluß von 1,25(OH)D auf die Mineralisation ist wenig wahrscheinlich: In der Zeit der großen BMC-Zuwachsrate von 6,4 % pro Woche lag der 1,25(OH)D-Serumspie-

gel bei 2 000 pg/ml (Tab. 20), in der Folge sank der Mineralisationszuwachs auf 2,4 % pro Woche, obwohl 1,25(OH)D auf über 7 000 pg/ml stieg.

Interessant ist auch der Vergleich des absoluten BMC mit dem linearen Mittelwert, da er Aufschluß über die Verteilung der neudeponierten Mineralien auf alte entmineralisierte und durch Wachstum neuentstandene Knochenmatrix gibt.

In den absoluten BMC geht sowohl der Mineralisationsgrad der drei Lendenwirbel L2 - L4 als auch ihr Größenzuwachs ein. Der lineare Mittelwert hingegen erfaßt nur den Mineralisierungsgrad, da der absolute BMC durch die Länge der 3 Wirbelkörper dividiert wird. Wenn man den Zuwachs von absolutem BMC durch den vom linearen Mittelwert teilt (4,05 : 3,17), ergibt sich ein Längenzuwachs der drei Lendenwirbelkörper von 28 %. Die Gesamtgröße des Patienten wuchs in demselben Zeitraum von 71,5 auf 83 cm, also um 16 %. Die Lendenwirbel scheinen also etwas mehr gewachsen zu sein als der gesamte Körper, wobei allerdings zu berücksichtigen ist, daß der Scanner nur eine Meßgenauigkeit von 4 mm hat, mit der er in diesem Abstand über die Wirbelsäule fährt.

Es bleibt festzuhalten, daß die gleichzeitige Bestimmung von absolutem BMC und linearem Mittelwert bei Kindern von erheblich größerer Bedeutung als bei Erwachsenen ist, da man hierdurch nicht nur exakten quantifizierbaren Aufschluß über die Zunahme des Knochenmineralgehalts (über den absoluten BMC) erhält, sondern auch darüber, wie sich diese Zunahme auf den Mineralisierungsgrad und den Längenzuwachs verteilt. Es ist zu überlegen, wie man - zur Verbesserung der Meßgenauigkeit der Wirbelkörperhöhe - den Abstand der Scannerzeilen vermindern könnte, ohne die Strahlenbelastung zu erhöhen.

Auch in der Verlaufsbetrachtung führt die Differenzierbarkeit von Mineralisierungsgrad und Wachstum zu interessanten Aufschlüssen.

Zwischen den ersten beiden Messungen waren die wöchentlichen Zuwachsraten von absolutem und linearem BMC mit 6,4 % und 6,3 % praktisch gleich. Dies zeigt, daß fast der gesamte Mineralisationszuwachs dem entmineralisierten Osteoid zukam: Der im Englischen treffend "hungry bone" genannte Knochen "verschlingt" die Mineralien, es tritt nur ein geringes Längenwachstum auf.

Zwischen der zweiten und dritten Messung des BMC war der Zuwachs des absoluten Wertes mit 2,4 % fast doppelt so groß wie der des linearen (1,4 %). Man kann also sagen, daß etwa eine Hälfte der Mineralien zum Längenwachstum, die andere zur Vermehrung der Knochendichte verwendet wurde. Bestätigt wird diese Hypothese durch den Größenzuwachs des Patienten in den Meßabschnitten: Im ersten wuchs der Patient nur 2,5, im zweiten dagegen 6,5 cm. Das Aufholwachstum des Patienten spiegelt sich also in der Vergrößerung der Differenz der Zuwachsraten von absolutem und linearem BMC.

Zwischen der dritten und vierten BMC-Messung verlangsamt sich das Wachstum wieder: Der Größenzunahme von nurmehr 3cm entspricht eine Annäherung der Zuwachsrate von absolutem und linearem BMC (3,1 % und 2,5 %/Woche).

Der Verlauf des BMC unseres Patienten ermöglicht zwei wichtige Feststellungen:

- Der Mineralisationszuwachs schwankt mit der Kalziumtherapie; bei nur oraler Gabe war er am geringsten, größer unter intermittierenden Infusionen, mit Abstand am größten aber unter der Dauerinfusion. Dies bestätigt zum einen die Effektivität der Infusionstherapie, zum anderen läßt die geringe Wirksamkeit der oralen Kalziumtherapie eine Störung der intestinalen Kalziumresorption vermuten (siehe Kapitel 7.3).
- Der Vergleich von absolutem und linearem BMC-Zuwachs eröffnet Möglichkeiten, die komplexen Vorgänge bei Erkrankungen des kindlichen Skeletts, die durch die Simultaneität von Knochendichteänderungen und Wachstum entstehen, differenzierter zu analysieren.

Wenn die Methodik der dualen Photonenabsorptometrie besser an die Gegebenheit des kindlichen Organismus adaptiert wird, steht ihr sicherlich eine große Zukunft bei Diagnostik und Verlaufskontrolle pädiatrischer Knochenerkrankungen bevor.

7.2.2 Radiologie

Zwei Punkte sind hinsichtlich der radiologischen Befunde von besonderem Interesse:

- Das nicht ganz rachitistypische Bild im Aufnahmebefund (Kapitel 4.4.5, Abb. 20a im Anhang)
- Der Verlauf unter Therapie (Kapitel 4.6.5, Abb. 20b im Anhang)

Der auffallendste nicht zur Rachitis passende Befund war das völlige Fehlen von erkennbarem Osteoid. Dieses wird bei Vitamin D-Mangelrachitis überschießend gebildet und ist pathognomonisch für die Erkrankung.

Später, nach Beginn der intravenösen Kalziumtherapie, zeigte sich, daß durchaus rachitistypisches Osteoid vorlag. Es war zuvor so extrem demineralisiert, daß es sich in seiner Strahlendichte vom umliegenden nichtossären Bindegewebe nicht unterscheiden ließ.

Dieses Ausmaß an Skelettdemineralisierung kommt bei Vitamin D-Mangelrachitis kaum vor, weil die Vitamin D-Wirkung ja nie völlig fehlt, sondern nur mehr oder weniger stark reduziert ist. Insofern bestätigte sich auch die Aussage der Radiologen, daß kein einfacher Vitamin D-Mangel vorlag. Auch bei keinem anderen VDAR II-Patienten wurde über eine vergleichbar starke Skelettentkalkung berichtet. Für die extreme Ausprägung bei unserem Patienten sind zwei Erklärungen denkbar:

- Ein besonders schwerer Rezeptordefekt, der durch die Ergebnisse der Fibroblastenkultur (siehe Kapitel 5.6.2) bestätigt wurde.

- Ein besonders effektiver sekundärer Hyperparathyreoidismus, der zwar das Serumkalzium trotz schwerster Erkrankung lange im Normalbereich halten konnte, aber dafür die Kalziumdepots im Knochen vollkommen aufgezehrt hatte.

Die Besserung der Skelettmineralisation war etwa sechs Wochen nach Beginn der kontinuierlichen Kalziuminfusion erkennbar, nachdem unter der vorhergehenden hochdosierten Kalziferoltherapie (III/IV) eher eine Verschlechterung eingetreten war. Im Rahmen der verstärkten Knochendichte wurde - wie oben bereits erwähnt - erstmals Osteoid sichtbar, die Röntgenbilder somit rachitistisch.

Die Mineralisation besserte sich unter der Dauerinfusion rasch, nach deren Ende langsamer. Dies bestätigte die Aussage der BMC-Messungen.

Während sich der Mineralisationsgrad deutlich besserte, blieb die Knochenstruktur pathologisch. Die Mineralisation vollzog sich nicht wie bei der Abheilung einer D-Mangelrachitis mit präparatorischen Mineralisationszonen, sondern appositionell. Der Kalk lagerte sich ähnlich wie bei Sedimentgestein Schicht für Schicht ab. Dadurch entstanden vor allem an den Extremitäten lamelläre Kortikales und kokardenförmige Epiphysen. Dieser Befund wird im Englischen anschaulich "bone in bone" genannt. Am distalen Femur fielen darüber hinaus zahlreiche längsgerichtete Lakunen auf. Auch der Schädel mit seiner kurzen Basis, seiner dichten Kapsel und im 38. Lebensmonat immer noch offenen vorderen Nähten war auffällig.

Es ist wahrscheinlich, daß die pathologisch bleibenden Knochenstrukturen auf die bei unserem Patienten fehlende Kalziferolwirkung zurückzuführen ist. Da in Osteoblasten $1,25(\text{OH})\text{D}$ -Rezeptoren nachgewiesen wurden (CHEN et al. 1979, WALTERS et al. 1982) ist naheliegend, daß die Rezeptoren bei dem Patienten so schwer defekt sind, daß kein regelrechter Knochen gebildet werden kann.

Bei keinem VDAR II-Patienten, der auf hochdosierte Kalziferoltherapie angesprochen hat, wurde von einer vergleichbaren Persistenz pathologischer Knochenbefunde berichtet. Dies ist ein Hinweis darauf, daß die Befunde unseres Patienten, der nicht auf Kalziferol ansprach, möglicherweise auf mangelnde Vitamin D-Wirkung zurückzuführen sind.

Bei dem zweiten VDAR II-Patienten, der erst unter Kalziuminfusionen eine Besserung zeigte, wird von normaler Knochenstruktur berichtet, obwohl in Zellkulturen aus einer Knochenbiopsie des Patienten weder eine $1,25(\text{OH})\text{D}$ -abhängige Induktion der 24-OHase - noch der Osteokalzin-Produktion nachgewiesen werden konnte (BALSAN et al. 1986). Es stellt sich die Frage, ob die fehlende Synthese zweier Vitamin D-abhängiger Proteine in vitro unbedingt einen völligen Ausfall der Vitamin D-Wirkung in vivo bedeuten muß. Es ist nicht auszuschließen, daß im Organismus dieses Patienten eine geringe Restwirkung von $1,25(\text{OH})\text{D}$ besteht, die zwar nicht ausreicht, um den Kalziumbedarf durch intestinale Absorption zu decken, aber eine normale Knochenmineralisation bei intravenöser Kalziumzufuhr ermöglicht. Die Befunde unseres Patienten nach einer Kalziuminfusion vergleichbarer Dosierung (bis zu 100 mg Ca/kg KG und Tag gegenüber bis zu 45 mg/kg KG und Tag bei dem Patienten von Balsan) sprechen für diese Annahme.

Die Frage, ob die Knochenmineralisation vor allem von ausreichenden Kalzium- oder Kalziferolkonzentrationen im Serum abhängt, ist seit Jahrzehnten umstritten. Früher neigte man eher zu der Ansicht, daß Vitamin D allein trotz kalziumfreier Diät eine D-Mangelrachitis zur Abheilung bringen könne (STALDER et al. 1962). Heute gibt es Ergebnisse von Tierversuchen (UNDERWOOD et al. 1984 und WEINSTEIN et al. 1984), die zeigen, daß eine D-Mangelrachitis trotz Vitamin D-armer Diät bei normalen Serumspiegeln von Kalzium und Phosphat, aufrechterhalten durch intravenöse Substitution, abheilt. Histologisch ergab sich dabei eine normale Knochenstruktur. Daraus wurde geschlossen, daß die antirachitische Wirkung von Vitamin D nicht am Knochen, sondern bei der intestinalen Kalziumabsorption

lägen (MARX et al. 1984). Diese gewährleistet über normale Kalziumserumspiegel eine ungestörte Knochenmineralisation. Bei diesen Versuchen ist aber zu bedenken, daß die Vitamin D-Wirkung durch künstliche Mangelerkrankung zwar vermindert, aber nicht - wie bei einem schweren Rezeptordefekt - völlig ausgeschaltet werden kann. Aus den genannten Arbeiten kann man bei kritischer Betrachtung also nur schließen, daß ein Vitamin D-Mangel, wie er bei Fehlernährung auftritt, auch durch Kalziuminfusion zur Abheilung gebracht werden kann, nicht aber, daß Vitamin D überhaupt keine Wirkung am Knochen entfalte und so für eine regelrechte Mineralisation nicht notwendig sei. Die Frage, ob Vitamin D am Knochen eine essentielle Rolle spielt, bleibt bei den komplexen Verhältnissen in vivo weiter offen. Die Befunde unseres Patienten scheinen eher auf eine solche Wirkung hinzuweisen.

7.2.3 Dentale Befunde

Im Laufe des stationären Aufenthaltes besserten sich die dentalen Befunde des Patienten: Weitere Milchzähne brachen durch, es trat keine Karies an den Schmelzhypoplasien auf (siehe Kapitel 4.4.6 und 4.6.6). Es stellt sich nun die Frage, ob diese Besserung durch die Kalziferoltherapie, die Kalziuminfusionen oder die externen und internen Fluoridgaben hervorgerufen wurde. Wie in Kapitel 3.2.8 beschrieben, wurden in tierischen Pulpazellen $1,25(\text{OH})\text{D}$ -Rezeptoren nachgewiesen, deren physiologische Bedeutung noch unklar ist. Die gleichzeitige Anwendung dreier verschiedener Substanzen (Kalziferol, Kalzium, Fluor), die möglicherweise Auswirkungen auf das Gebiß haben und das langsame Ansprechen des Zahnwachstums auf therapeutische Maßnahmen machen es bei dem Patienten unmöglich, einen Zusammenhang zwischen der Befundbesserung und den angewandten Substanzen herzustellen. Unser Patient kann also keine neuen Aufschlüsse über die Bedeutung von Kalziferol oder von $1,25(\text{OH})\text{D}$ -Rezeptoren für die Entwicklung und Gesunderhaltung des Gebisses vermitteln. Es besteht die Hoffnung,

daß die Entwicklung der bleibenden Zähne des Patienten Hinweise auf die pathophysiologischen Zusammenhänge bei rachitischen Zahnbefunden ergeben werden.

7.3 Intestinale Kalziumabsorption

Während - wie im vorangehenden Abschnitt dargestellt - die Bedeutung von Vitamin D am Knochen umstritten ist, besteht an der antirachitischen Wirkung im Intestinum kaum ein Zweifel (MARX et al. 1984).

Bei der intestinalen Kalziumabsorption sind zwei Prozesse beteiligt (MURER et al. 1981 und ALLEN 1982):

- passive, nicht sättigbare Diffusion aufgrund eines Konzentrationsgefälles
- aktiver, sättigbarer, von $1,25(\text{OH})\text{D}$ regulierter Transport.

In Kenntnis dieser Forschungsergebnisse versuchten wir bei dem Patienten während der hochdosierten Kalziferoltherapie (III/IV) zusätzlich durch orale Kalziumsubstitution von bis zu 5 Gramm pro Tag das Serumkalzium anzuheben. Wir hofften, durch die Steigerung des intestinalen Kalziumangebots selbst bei gestörtem aktiven Kalziumtransport den diffusionalen Kalziumeinstrom zu erhöhen. Das weitere Absinken des Kalziumserumspiegels und die Verschlechterung der Skelettbefunde zeigte die Erfolglosigkeit dieser Maßnahme. Dies war der Anlaß, die intestinale Kalziumabsorption unseres Patienten zu messen. An dieser Stelle soll auch darauf hingewiesen werden, daß die mehrfach beim Patienten gemessenen Magnesiumserumspiegel an oder unter der unteren Normgrenze (siehe Kapitel 4.4.1 und 4.6.1) wahrscheinlich ebenfalls auf eine intestinale, Vitamin D-abhängige Absorptionsstörung dieses Minerals zurückzuführen sind (BROADUS 1981).

7.3.1 Messungen mit stabilen Kalziumisotopen

Die Verwendung von radioaktiven Kalziumisotopen zur Untersuchung des Mineralstoffwechsels ist nur bei Erwachsenen vertretbar. Die bei Kindern auftretende Strahlenbelastung, insbesondere des Knochenmarks, wird heute allgemein für

nicht verantwortbar gehalten. Früher wurde gelegentlich über Untersuchung mit strahlenden Kalziumisotopen bei Kindern berichtet (HARRIS et al. 1965), einmal auch bei einer neunjährigen VDAR II-Patientin (TSUCHIYA et al. 1980). Die Entwicklung massenspektrometrischer Meßmethoden für stabile, d. h. nicht strahlende Kalziumisotope ermöglicht es heute, guten Gewissens Untersuchungen des kindlichen Kalziumstoffwechsels vorzunehmen (MOORE et al. 1985). Eine Belastung der Patienten entsteht nur noch durch die Gewinnung der Proben (Blutentnahme, Stuhl- und Urinsammlung).

Aufgrund der Neuheit der Methode liegen noch keine verlässlichen Normalwerte für Kinder vor. Da bei den großen Veränderungen des Kalziumstoffwechsels während des Wachstums für Kinder altersabhängige Normwerte aufgestellt werden müssen, erfordert dies eine große Anzahl von Probanden.

Die Ergebnisse der Untersuchungen der intestinalen Kalziumresorption brachten überraschende Ergebnisse:

- Von einer relativ kleinen Menge Kalzium wurde etwa die Hälfte absorbiert (bei einem Kalziumgehalt einer normalen Kost für 3- bis 4jährige Kinder von durchschnittlich 600 mg pro Tag (nach KELLER/WISKOTT 1984) entsprechen 93 mg Kalzium in etwa dem Kalziumgehalt einer Mahlzeit). Die prozentuale Absorptionsrate lag über der Norm für Erwachsene (25 - 40 %) und kann wohl als normal bezeichnet werden.
- Von einer fünffach größeren, pharmakologischen Dosis wurden nur etwa 5 % absorbiert. Dies liegt klar unter dem Normbereich für Erwachsene (15 - 35 %).

In absoluten Zahlen ausgedrückt, wurden mit 47 mg aus 93 gegenüber 25 mg aus 500 aus einem Fünftel der angebotenen Menge doppelt soviel Kalzium absorbiert. Selbst bei völligem Ausfall des aktiven, Vitamin D-abhängigen Kalziumtransports wäre doch bei einem großen intestinalen Kalziumangebot wegen des größeren Konzentrationsgefälles eine vermehrte Absorption per diffusionem zu erwarten gewesen.

Folgende Überlegungen lassen sich anstellen:

- Ein Meßfehler kann weitgehend ausgeschlossen werden. Die Messungen wurden wegen der überraschenden Befunde mit gleichem Ergebnis wiederholt.
- Der einzige Unterschied zwischen den beiden Messungen liegt offenbar in der Galenik des oral verabreichten Kalziums: Beim ersten Mal wurden eine 10 %ige Lösung aus Kalziumglukonat und -saccharat gegeben, beim zweiten Mal eine Brausetablette aus Kalziumlaktoglukonat und -karbonat. Es ist allerdings schwer vorstellbar, daß ein so bewährtes Präparat wie die Kalziumbrausetablette gegenüber der Kalziumlösung eine so viel schlechtere Pharmakokinetik aufweisen sollte.
- Die Vitamin D-Therapie (400 000 I.E./d) und der Abstand zur letzten Kalziuminfusion (24h) waren gleich und können so nicht für die unterschiedliche Absorption verantwortlich sein.
- Ein Punkt, der zwar nicht allein die extrem niedrige Absorption bei der zweiten Messung erklären kann, aber der zumindest dazu beigetragen haben könnte, ist die Bildung von Komplexen aus Kalzium und Fettsäuren im Darmlumen. Diese sind nicht absorbierbar und vermindern so das Kalziumangebot im Darm. Details werden im nächsten Abschnitt (7.3.2) diskutiert.

Letztendlich ist die Absorption im Darm von unübersehbar vielen Faktoren beeinflusst und zeigt starke intraindividuelle Schwankungen. Es ist deshalb einleuchtend, daß punktuelle Messungen der Absorption erheblich voneinander abweichende Ergebnisse erbringen können, deren Interpretation - wie in unserem Fall - Schwierigkeiten bereiten kann. Zur Bestimmung der intestinalen Kalziumabsorption ist die Messung eines oral mehrfach in regelmäßigen Intervallen gegebenen Tracers im Serum über mehrere Tage wohl günstiger.

Zusätzlich besteht die Möglichkeit, über die Messung eines anderen, intravenös gegebenen stabilen Isotops die endogene fäkale Kalziumsekretion aus gepoolten Stuhlproben mehrtägiger Sammelperioden zu bestimmen. Diese ist beim Kind im Gegensatz zum Erwachsenen der wichtigste Ausscheidungsweg für Kalzium. Während beim Erwachsenen etwa zwei Drittel des intestinal aufgenommenen Kalziums durch den Urin ausgeschieden werden (HANSEN et al. 1973), sind es beim Kind nur etwa 2 % (MOORE et al. 1985). Die gleichzeitig gemessene endogene fäkale Sekretion lag dagegen zwischen 10 und 50 % des oral aufgenommenen Kalziums. Daraus folgt, daß

- die Messung von Kalzium im kindlichen Urin für die Gesamtbilanz nur von begrenzter Aussagekraft ist;
- die Bestimmung der Absorption des oral aufgenommenen Kalziums durch die Messung der endogenen fäkalen Sekretion ergänzt werden muß. Erst die daraus hervorgehende Nettoaufnahme gibt Aufschluß über die intestinale Kalziumbilanz.

Obwohl aus den genannten Gründen die Messungen der intestinalen Kalziumabsorption mit stabilen Isotopen bei unserem Patienten keine eindeutigen Ergebnisse gebracht hat, zeigt sie einen vielversprechenden Ansatz zur Erforschung des kindlichen Mineralstoffwechsels und zur Beurteilung der intestinalen Funktion im pädiatrischen Patientengut.

Im Vergleich zeigte sich bei anderen VDAR II-Patienten unter Therapie

- keine Steigerung der Kalziumabsorption bei ungeesserter Rachitis (ROSEN et al. 1979)
- eine klare Steigerung der Resorption bei erfolgreicher Kalziferoltherapie (MARX et al. 1978, ZERWEKH et al. 1979 und TSUCHIYA et al. 1980).

Diese Beobachtungen belegen die wesentliche Bedeutung der intestinalen Kalziumresorption für die Rachitisheilung.

Aus der Tatsache, daß eine Besserung des Mineralstoffwechsels bei unserem Patienten erst unter intravenöser Kalziumtherapie eingetreten ist, geht hervor, daß die intestinale Absorption von Kalzium selbst bei hochdosierter Kalzium- und Kalziferoltherapie ungenügend ist. Wir führten dennoch weiterhin eine Kalziumsubstitution von 1 bis 2 Gramm pro Tag durch, weil diese Therapie bei zugegebenermaßen fragwürdigem Nutzen sicherlich keine unerwünschten Nebenwirkungen hervorrufen kann.

7.3.2 Stuhlfettausscheidung

Wie in Kapitel 4.6.4 beschrieben, untersuchten wir die Stuhlfettausscheidung des Patienten, um eine Malabsorption der lipophilen Kalziferole auszuschließen.

Unter hochdosierter oraler Kalziumtherapie (3,8 g Ca/d) waren die Stuhlfette mit 12,1 g/d hoch pathologisch, bei niedrigeren Kalziumtagesdosen (1,0 - 2,3 g Ca/d) lagen sie mit 3,5 - 5,6 g Fett pro Tag nur wenig über dem alterabhängigen Normalbereich (0,2 - 2,9 g Fett/d). Nach Absetzen der oralen Kalziumgaben lag die Stuhlfettausscheidung mit 2,3 g/d erstmals im Normbereich.

Die Ergebnisse legen einen Zusammenhang zwischen der oralen Kalziumtherapie und den Stuhlfettausscheidungen nahe. Für das Ansteigen der Stuhlfette mit den oralen Kalziumdosen bietet sich eine einleuchtende pathophysiologische Erklärung an: Kalzium verbindet sich im Darm mit Fettsäuren zu unlöslichen, nicht absorbierbaren Komplexen, die mit dem Stuhl ausgeschieden werden. Über diese spezielle gastroenterologische Fragestellung gibt es bisher kaum Literatur. Nur in dem französischen Lehrbuch "Encyclopédie Médico-Chirurgiale" berichtet Prof. RAY 1977 über einen Zusammenhang zwischen Kalziumaufnahme und Stuhlfetten bei Säuglingen. Er stellt dabei eine klare Korrelation der beiden Parameter fest. Die Stuhlfettausscheidung der Säuglinge steigt mit dem Nahrungskalzium an, und zwar unabhängig davon, ob Muttermilch, halbfette Kuhmilch oder eine adaptierte Milchnahrung gefüttert wurde.

Da bei unserem Patienten keine klinischen Zeichen für eine schwerwiegende Fettmahlabsorption vorlagen - der Junge war eher obstipiert, die Stuhlmengen gering und die Stühle nie fettigglänzend - und die unter Therapie stark ansteigenden 25(OH)D- und 1,25(OH)D-Serumspiegel eine ungestörte intestinale Kalziferolabsorption bestätigten, beschränkten wir uns auf Verlaufskontrollen und führten keine therapeutischen Maßnahmen durch. Wir zogen aber daraus die Konsequenz, die orale Kalziumtherapie bei unserem Patienten auf maximal 2 Gramm pro Tag zu begrenzen, um bei einer fraglichen Wirksamkeit dieser Therapie (siehe intestinale Kalziumabsorption, Kapitel 7.3.1) den fäkalen Verlust an Fettsäuren in einer tragbaren Größenordnung zu halten.

7.4 Physikalische Therapie

Einige Monate nach Beginn der Kalziuminfusionstherapie hatte sich der Zustand des Patienten soweit gebessert, daß mit Krankengymnastik und Beschäftigungstherapie begonnen werden konnte. Als Folge der Kyphoskoliose der Brustwirbelsäule hatten sich erhebliche Kontrakturen der Rückenmuskulatur gebildet. An ihrer Beseitigung wurde gearbeitet. Dabei mußte wegen der großen Fragilität der Knochen äußerst vorsichtig vorgegangen werden. Ein weiteres wichtiges Ziel war es, den Jungen, der über viele Monate wegen seiner Knochenschmerzen und seiner Muskelschwäche unbeweglich im Bett gelegen war, zu vermehrter körperlicher Bewegung zu motivieren, um so Muskelkraft und Geschicklichkeit zu trainieren. Dabei kam uns zu Hilfe, daß der Junge an seiner Umwelt lebhaft interessiert war, schnell deutsch lernte und mit allen auf der Station Beschäftigten schnell und ohne Scheu Kontakt aufnahm. Zunächst begann er in Bauchlage mit Hilfe der Beine zu robben. Dann lernte er mühevoll, sich zwischen Bauch- und Rückenlage hin und her-zudrehen. Als er es schließlich schaffte, sich hinzusetzen, wurden ihm, um eine Verschlimmerung der Sitzkyphose zu verhindern, orthopädische Hilfsmittel angepaßt. Tagsüber trug er ein von der Hüfte bis an die Schultern reichendes Korsett, das an den Stellen seines Sitzbuckels besonders kräftig gepolstert wurde. Nachts schlief der Patient bäuchlings in einer Liegeschale, die der Kyphoskoliose entgegenwirkte. Der nächste Fortschritt bestand darin, daß A. M. sich an Gegenständen hochzuziehen begann und für einen kurzen Moment freihändig stehend das Gleichgewicht halten konnte. Trotz der zu diesem Zeitpunkt bereits wesentlich verbesserten Mineralisation des Skeletts waren seine Beine nicht stabil genug, das Körpergewicht zu tragen. Die schon ohne Belastung - allein durch Muskelzug - entstandene Varusform des Beinskeletts drohte sich weiter zu verschlechtern. Es wurde deshalb die Konstruktion eines relativ aufwendigen Gehapparates notwendig, der das Körpergewicht des stehenden Patienten unter Entlastung der Beine direkt auf das Becken übertrug.

Obwohl das Stehen und Gehen mit diesem Apparat schwierig und kraftraubend ist, lernte es der intelligente Jungen relativ schnell mit Hilfe einer Stütze auf Rädern, die er vor sich herschob, das Gleichgewicht zu halten. Jetzt kam für die Krankengymnastik neben der Kontrakturbehandlung und dem Muskeltraining als neue Aufgabe zu, dem Kind das richtige Fallen beizubringen. Es ist leicht vorstellbar, was passieren kann, wenn ein Kind, das aufgrund der mangelnd mineralisierten Knochen äußert frakturgefährdet ist, mit einem trotz optimaler Konstruktion unhandlichen Gehapparat das Gleichgewicht verliert. Dank der großen Geduld der Krankengymnastin und der raschen Auffassungsgabe des kleinen Jungen konnte er am Ende seines stationären Aufenthalts mit dem Apparat vorwärts und rückwärts gehen und kurzzeitig freihändig stehen.

7.5 Prognose der Erkrankung

7.5.1 Zellkultur und Haarwuchs als prognostische Parameter

Alopezie zeigt sich in einer Arbeit von MARX et al. (in Druck) als Parameter für den Schweregrad der Erkrankung (siehe auch 3.2.7):

- Bei 25 Patienten mit Alopezie lag der Krankheitsbeginn sämtlich vor dem 3. Lebensjahr, von 11 Patienten ohne Alopezie erkrankten 4 in wesentlich höherem Alter.
- Unter Kalziferoltherapie lag das Serumkalzium von Patienten mit Alopezie mit durchschnittlich 1,95 mol/l (n = 5) gegenüber 2,35 mmol/l (n = 14) deutlich unter dem von Patienten mit normalem Haarwuchs, obwohl die Kalziferolserumspiegel um eine Zehnerpotenz höher lagen (300 versus 3 200 pg/ml 1,25(OH)D).

Die Korrelation von Alopezie zur Induzierbarkeit der 24-OHase in vitro als zweiten wichtigen prognostischen Parameter ist gut:

- Patienten aus sechs Familien zeigten eine induzierbare 24-OHase (Nr. 2, 3, 5, 16, 17 und 22 in Tab. 5); in fünf dieser Familien hatten die Patienten normales Haar;
- in sieben von acht Familien mit uninduzierbarer 24-OHase (Nr. 6, 11, 13, 15, 18, 21 und 23) hatten die Patienten Alopezie.

Interessant ist das Ansprechen auf Therapie bei den Patienten, bei denen Alopezie und 24-OHase-Test differieren. In beiden Fällen erweist sich der 24-OHase-Test als der bessere prognostische Parameter für den Erfolg einer Kalziferoltherapie: Die Patienten von ROSEN et al. 1979 mit induzierbarer 24-OHase (Tab. 10) zeigen eine Heilung der Rachitis unter 7,5 µg 1,25(OH)D - trotz Alopezie. Unser Patient ohne nachweisbare 24-OHase-Induktion spricht trotz normalem Haarwuchs nicht auf 99 µg 1,25(OH)D pro Tag an. Zwischen der Art des 1,25(OH)D-Rezeptordefektes in vitro (siehe Kapitel 3.2.3) und dem klinischen Verlauf

ließ sich keine Korrelation herstellen. Der Typ des Defektes scheint keine Auswirkung auf die Prognose zu haben und ist bis heute von rein wissenschaftlichem Interesse.

Zusammenfassend kann man sagen, daß das Vorliegen oder Fehlen von Alopezie bereits *prima vista* eine recht zuverlässige Prognose der VDAR II ermöglicht. Die Konstellation Alopezie nicht induzierbare 24-OHase sagt mit einiger Sicherheit einen schweren Verlauf voraus; umgekehrt normaler Haarwuchs induzierbare 24-OHase einen leichten. Wenn Haarwuchs und Ergebnis des *in vitro*-Tests differieren, ist wohl dem 24-OHase-Test größeres Gewicht beizumessen.

Es ist allerdings anzumerken, daß auch die Fibroblastenkultur ein mit Vorsicht zu bewertender prognostischer Anhaltspunkt ist: In zwei Familien (13 und 15) zeigten je zwei Geschwister *in vitro* eine nicht induzierbare 24-OHase. Dennoch kam es bei dem älteren Geschwister beider Familien zu einer deutlichen Besserung der Rachitis, bei dem jüngeren unter gleicher Therapie nicht. Die bei den älteren Geschwistern offenbar aufgetretene Remission (siehe folgender Abschnitt 7.5.2) war aus der Zellkultur nicht vorhersagbar.

Obwohl also der 24-OHase-Test durchaus für die Prognose der VDAR II wertvoll ist, muß er zurückhaltend bewertet werden, da sein Ergebnis offensichtlich nicht durch alle für den Verlauf maßgeblichen Faktoren beeinflusst wird.

7.5.2 Remissionen bei VDAR II

Eine Vollremission ist anzunehmen, wenn eine durch Zellkultur und/oder hochdosierte, langfristige Kalziferoltherapie nachgewiesene VDAR II-Erkrankung ohne Therapie abheilt bzw. nach ihrem Absetzen nicht rezidiert. Ein weiteres Kriterium ist ein Abfall erhöhter 1,25(OH)D-Serumwerte in den Normbereich ohne Rezidiv, weil dann von einer normalisierten 1,25(OH)D-Rezeptorfunktion beim Betroffenen ausgegangen werden kann. Eine Teilremission ist wahrscheinlich, wenn

- unter unveränderter oder verringerter Kalziferoltherapie eine Besserung oder Heilung auftritt
- der für eine Besserung oder Heilung erforderliche 1,25(OH)D-Serumspiegel sich dem Normbereich nähert.

Bei sechs VDAR II-Patienten ist eine Remission zu diskutieren:

- HOCHBERG et al. (1984) berichteten über 2 Patienten (13 A, 15 A), die jahrelang 50 bis 60 000 I.E. Vitamin D pro Tag ohne jedes Anzeichen von Besserung erhielten. Im Alter von 8 bzw. 6 Jahren trat dann eine deutliche Besserung der Rachitis in Klinik und Labor ein, ohne daß die Therapie geändert worden wäre. Es handelt sich um Teilremissionen: Die Rachitis wird als moderat bzw. minimal geschildert und das Serum-1,25(OH)D ist zwei bis dreifach erhöht. Diese Werte sind für VDAR II-Patienten unter erfolgreicher Therapie sehr niedrig (siehe Tab. 8).
- LIBERMAN et al. (1980) berichten, daß es bei einer 13jährigen VDAR II-Patientin (6), die zuvor auf verschiedene hochdosierte Kalziferoltherapieversuche nicht angesprochen hatte (siehe Tab. 7), unter einer Kombination von je 2 µg/d 1α(OH)D und 24,25(OH)D zur Normalisierung der Laborwerte kam, die 9 Monate nach Absetzen dieser Therapie anhielt. Angaben über den weiteren Verlauf liegen nicht vor.

Der Autor führt die Besserung auf die Gabe von 24,25(OH)D zurück, eine Remission ist aber mindestens ebenso wahrscheinlich: Die Besserung persistierte ohne Therapie; sie ging mit sinkenden 1,25(OH)D-Serumspiegeln (von etwa 700 auf 350 pg/ml) einher. Die Serumwerte von 24,25(OH)D stiegen unter der Therapie mit diesem Metaboliten von unmeßbar (<0,4 ng/ml) auf 1,85 ng/ml, um nach beendeter Therapie bei anhaltender Besserung wieder in den unmeßbaren Bereich abzufallen. Dieser Verlauf läßt keine sichere Interpretation hinsichtlich einer eventuellen Wirksamkeit von 24,25(OH)D zu.

- BALSAN et al. (1979, 1983 und 1986) berichten über eine Patientin (4), die zwischen dem dritten und fünften Lebensjahr unter 4 - 8 μg $1\alpha(\text{OH})\text{D}$ pro Tag keinerlei rachitische Symptome zeigte. Vor und nach dieser zwei Jahre dauernden Remission litt die Patientin trotz höchster Kalziferoldosen (siehe Tab. 7) und $1,25(\text{OH})\text{D}$ -Serumspiegeln bis zu 18 900 pg/ml unter schwerer Rachitis. Die Patientin konnte später durch Kalziuminfusionen gebessert werden (siehe auch Kapitel 7.2.2).
- BROOKS et al. (1978 und 1980) berichten von einer 22jährigen Patientin (1), die in mehr als 3 Jahren ohne Vitamin D-Therapie kein Rezidiv erlitt. Während dieser Zeit trug die Patientin eine komplikationslose Schwangerschaft aus.

Dies ist umso bemerkenswerter, da der Vitamin D-Stoffwechsel während der Schwangerschaft intensiviert wird und eine eventuelle Störung eher mehr ins Gewicht fällt. In Anbetracht der Tatsache, daß der $1,25(\text{OH})\text{D}$ -Serumspiegel bei gesunden Schwangeren leicht erhöht ist (KUMAR et al. 1979), ist das Serum- $1,25(\text{OH})\text{D}$ der Patienten fast als normal zu bezeichnen (Tab. 8). Obwohl die VDAR II der Patientin von Anfang an nicht besonders stark ausgeprägt war, scheint dennoch eine Remission nicht ausgeschlossen.

- ADAMS et al. (1984) berichten nur wenig über den Verlauf der Patientin (16). Nach drei Jahren Therapie benötigte die symptomfreie Fünfjährige nur noch 20 bis 40 000 I.E. Vitamin D pro Tag und hatte ein normales $1,25(\text{OH})\text{D}$ von 64 pg/ml Serum. Obwohl die Patientin wie die vorhergehende nur leicht an VDAR II erkrankt war und der Verlauf kaum dokumentiert ist, steht die Frage einer Remission zumindest im Raum.

Remissionen scheinen also bei VDAR II nicht selten zu sein. Die Berichte von BALSAN et al. zeigen darüber hinaus, daß die Remission auch nur vorübergehend auftreten kann. Das Alter bei Remission lag zwischen 3 und 22 Jahren ($n = 6$; Median 7 Jahre).

7.5.3 Prognose des Patienten

Da bei VDAR II Erkrankungen unterschiedlichsten Schweregrades auftreten, ist die Prognose für die einzelnen Patienten individuell zu beurteilen. Eine Zusammenstellung der bisher veröffentlichten Verläufe (Tab. 40) macht dies deutlich.

Tabelle 40: Prognose der VDAR II

Der Verlauf von 41 und 45 Patienten ist dokumentiert.

Verstorben	15	37 %
Unverändert	7	17 %
Gebessert	19*	46 %
Davon gesicherte Remission	3	7 %
fragliche Remission	— 3	— 7 %
	41	100 %

* Das Ausmaß der Besserung bei den 19 Patienten reicht von gering bis zu völliger Heilung.

Insgesamt dürfte die Prognose bei adäquater Therapie wesentlich günstiger sein als die bisherigen Verläufe vermuten lassen:

- Nur 4 der 15 Patienten (3 Patienten (11) von Tietze und einer (17) von Fraher) verstarben nach Stellung der Diagnose VDAR II und unter entsprechender Therapie.
- Bei den unverändert erkrankten Patienten wurde zum Teil nur niedrig dosierte Kalziferoltherapie durchgeführt - wohl aus Angst vor einer Intoxikation. Eine Dosissteigerung und/oder eine intravenöse Kalziumtherapie könnte zu weiteren Besserungen führen.

Unser Patient ist sicherlich einer der schwersten VDAR II-Fälle. Seine ebenfalls erkrankte Schwester starb. Er sprach nicht auf höchstdosiertes Kalziferol an und selbst unter Kalziuminfusionen kam es nicht zu einer Normalisierung der Skelettmineralisation. Vier Septikämien zeigen seine Gefährdung durch Infektionen. Es ist darüber hinaus beunruhigend, daß A. M. nach anfänglich guter Gewichtszunahme seit Juni 1985 innerhalb eines Jahres nicht weiter zulegte, sondern bei etwa 10 kg einpendelte. Er entfernte sich also wieder immer weiter von der dritten Perzentile. Obwohl sich also der Zustand des Patienten seit seiner stationären Aufnahme erheblich gebessert hat, muß seine Prognose doch als zweifelhaft bezeichnet werden.

7.6 Schema für diagnostisches und therapeutisches Vorgehen bei VDAR II

Diagnose

Ein wesentliches Kriterium sind die Serumspiegel von 25(OH)D und 1,25(OH)D vor Therapie:

- Normales oder erhöhtes 25(OH)D schließt einen Vitamin D-Mangel aus.
- Normales oder erhöhtes 1,25(OH)D schließt eine VDAR I aus. Hier muß darauf hingewiesen werden, daß auch bei einer Mangelerkrankung leicht erhöhte 1,25(OH)D-Serumspiegel vorliegen können (KRUSE 1985).

Wenn keine Möglichkeit zur Bestimmung von Vitamin D-Metaboliten im Serum gegeben ist oder diese keine eindeutigen Befunde ergeben, kann eine Diagnose auch ex juvantibus gestellt werden:

- Eine Besserung der Rachitis unter täglich 5 000 I.E. Vitamin D innerhalb eines Monats spricht für eine Mangelerkrankung.
- Eine Besserung unter täglich 1 µg 1-hydroxyliertem D-Metaboliten (Calcitriol oder Alfacalcidol) nach Erfolglosigkeit obiger Therapie spricht für eine VDAR I.
- Kein Ansprechen des Patienten auf beide obengenannten Therapieversuche legt den Verdacht auf VDAR II nahe.

Wenn der Verdacht auf eine VDAR II besteht, sollte eine Hautbiopsie des Patienten an ein spezialisiertes Zentrum versandt werden. In der Zellkultur kann nicht nur die Diagnose bestätigt werden, auch Hinweise für das therapeutische Vorgehen können gegeben werden.

Kalziferoltherapie

1-hydroxylierte Metabolite sind für eine Therapie mit steigender Dosierung wegen der geringeren Wirkungsverzögerung vorzuziehen (siehe Kapitel 7.1.1).

Es sollte mit etwa 5 µg Calcitriol oder Alfacalcidol pro Tag begonnen werden. In dieser Größenordnung lagen die niedrigsten Tagesdosen, auf die VDAR II-Patienten ansprachen (siehe Tab. 7).

Die Dosis sollte etwa alle 2 - 3 Wochen verdoppelt werden, wenn keine Besserung eintritt. Nach etwa drei Monaten erreicht man Tagesdosen von rund 100 µg. Nach den bisherigen Erfahrungen scheint dies die Obergrenze für eine erfolgversprechende Therapie zu sein.

Die Höchstdosis sollte mindestens weitere drei Monate beibehalten werden, bevor ein Nichtansprechen auf Kalziferole konstatiert wird.

Obwohl zweite Wahl, können auch Vitamin D und Calcifediol eingesetzt werden. Dabei sollten wegen der größeren Wirkungsverzögerung und der größeren Intoxikationsgefahr die Abstände zwischen den Dosissteigerungen verlängert werden. Die zu empfehlende Höchstdosis liegt bei einigen Millionen I.E. Vitamin D pro Tag. Sie sollte mindestens ein halbes Jahr gegeben werden.

Die Kalziferoltherapie sollte durch Messung der Serumspiegel kontrolliert werden, um beispielsweise intestinale Malabsorption der Präparate auszuschließen. 1,25(OH)D-Serumspiegel im Nanogrammbereich (mehr als hundertfach über der Norm) sollten mehrere Monate lang beim Patienten nachweisbar sein, bevor von einer erfolglosen Kalziferoltherapie gesprochen werden kann.

Trotz Nichtansprechens eines Patienten auf Kalziferole kann eine weitere Therapie (in unserem Fall 200 - 400 000 I.E. D₃/d) durchaus sinnvoll sein. Eine evtl. auftretende Teilremission (siehe Kapitel 7.5.2) könnte ohne Kalziferoltherapie verborgen bleiben.

LIBERMAN et al. (1980) vermuten bei ihrem Patienten einen positiven Therapieeffekt von 24,25(OH)D. Da eine Remission ebenso gut für die Besserung verantwortlich sein könnte, sollte diese Einzelbeobachtung nicht dazu führen, eine erforderliche Kalziuminfusion durch einen weiteren, natur-

gemäß Monate dauernden Therapieversuch mit 24,25(OH)D hinauszuzögern. Entsprechendes gilt für die Vermutung von ZERWEKH et al. (1979), daß 25(OH)D trotz Versagens von Vitamin D₂ eine Besserung der Patientin bewirkt hätte.

Kalziuminfusionen

Sie sind indiziert

- bei bedrohlicher Hypokalzämie oder extremer Knochendemineralisation
- bei Erfolglosigkeit mehrmonatiger hochdosierter Kalziferoltherapie
- bei unmeßbarer 24-OHase-Induktion in vitro

Als Dosis haben sich 10 mg Kalzium pro kg KG und Tag bewährt. Die Dosis kann in 12 Stunden gegeben werden, um die jungen Patienten nicht zu lange ans Bett zu fesseln.

Anfangs sollten die Infusionen täglich durchgeführt werden, bis sich das Serum-PTH normalisiert. Danach kann das Kalzium in zwei Infusionen pro Woche gegeben werden.

Die Infusionen können entweder über eine periphere Vene oder über eine arteriovenöse Fistel durchgeführt werden.

Antiinfektiöse Therapie

Die ausschließliche Todesursache bei VDAR II-Patienten waren Pneumonien, Rachitispatienten sind allgemein stark infektionsgefährdet (siehe Kapitel 9).

- Bei fieberhaften Infekten sind die Patienten deshalb konsequent und nach Resistenztests mit Antibiotika zu behandeln.
- Bei der intravenösen Kalziumtherapie ist besonders auf sachgemäße Antisepsis zu achten.

Die obengenannten Maßnahmen entsprechen nach heutigem Kenntnisstand dem optimalen Vorgehen bei VDAR II. Mit ihrer Anwendung kann den meisten Patienten geholfen werden.

8. VERLAUF DER HÄMATOLOGISCHEN BEFUNDE

Die hämatologischen Diagnosen und Differentialdiagnosen des Patienten wurden in Kapitel 6.2 diskutiert.

8.1 Extramedulläre Blutbildung

Zur Beurteilung des Verlaufs der extramedullären Hämatopoese stehen uns folgende Befunde zur Verfügung (Kapitel 4.4.2 und 4.6.2)

- Differentialblutbild
- Knochenmarkhistologie
- Leber- und Milzgröße

Die Zahl der verschiedenen Zellarten im peripheren Blut ist von unzähligen Faktoren abhängig. Einige für unseren Patienten wesentliche seien im folgenden genannt:

- Lokalisation der Hämatopoese
- Wachstum und Reifung der verschiedenen Zelltypen
- Schrankenfunktion zwischen Bildungsort der Zellen und der Blutbahn
- Versorgung mit für die Hämatopoese notwendigen Substanzen wie z. B. Eisen
- Infektionen

Bei einem Vergleich der unreifen Zellen von weißer und roter Reihe im peripheren Blut (Abb. 8) fällt ein starker Anstieg und Wiederabfall der Erythroblastenzahl vor Beginn der hochdosierten Kalziferoltherapie auf, der bei den Myelozyten keine Entsprechung hat. Dies läßt sich auch mit den Zahlen aus den Tabellen 23 und 24 belegen:

- Die Erythroblasten stiegen von 890/ μ l (I) fast um das Vierfache auf 3 210/ μ l (II; n = 6) an, um dann wieder auf 830/ μ l (III; n = 8) abzufallen.
- Bei den Myelozyten lag ein deutlich geringerer Anstieg von 300/ μ l (I; n = 3) auf 580/ μ l (II; n = 5) vor.

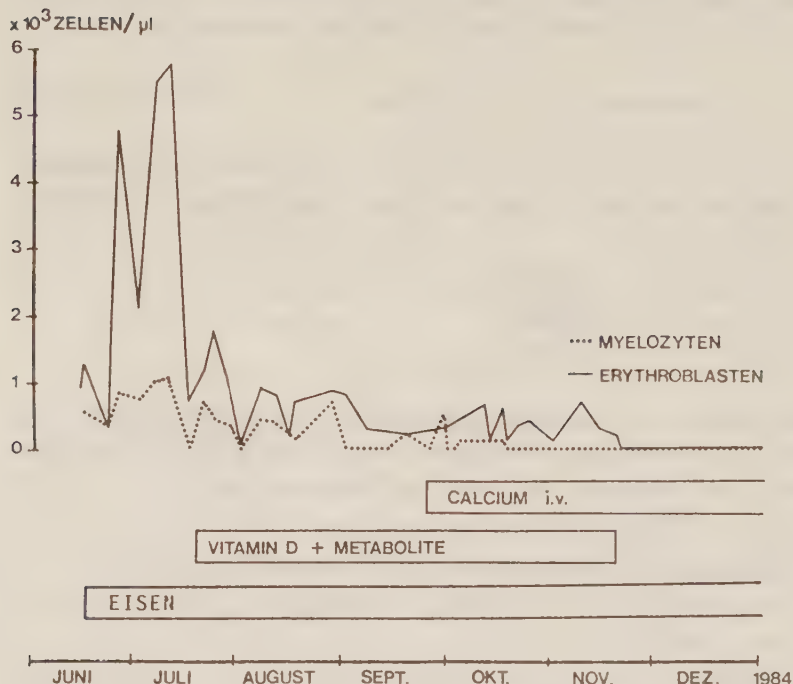


Abbildung 8 - Verlauf der unreifen Zellen im peripheren Blut unter hochdosierter Kalziferol- und intravenöser Kalziumtherapie.

Der starke Anstieg der Erythroblasten in Abschnitt II ist mit großer Wahrscheinlichkeit auf die damals begonnene Eisentherapie zurückzuführen. Nach der Behebung eines Eisenmangels, der bei unserem Patienten sicherlich vorlag (siehe Kapitel 6.2.2 und 8.2), kommt es zu einer kräftigen Steigerung der Erythropoese, die sich in einer vorübergehend erhöhten Zahl unreifer roter Zellen in der Peripherie widerspiegelt, der sogenannten Retikulozytenkrise. Bei unserem Patienten kam es neben einer Erhöhung der Retikulozytenzahl (Tab. 23) wegen der gestörten Schrankenfunktion auch zu einer "Erythroblastenkrise".

Wenn man diese Krise außer acht läßt, zeigte sich folgender Verlauf (Tab. 23):

- Die Retikulozytenzahl lag in den Abschnitten I und III bis VII zwischen 49 % und 85 %. Ab VIII pendelte sie sich auf etwa 15 % ein; dies bedeutete eine Normalisierung auf alterstypische Werte.
- Bei den Erythroblasten zeigte sich ein ähnliches Bild. Ihre Zahl fiel von etwas über 800/ μ l (I und III) zunächst auf 250/ μ l (IV bis VII). Danach normalisierte sich die Blastenzahl; d. h. ab VIII waren mit einer Ausnahme keine Erythroblasten in der Peripherie nachweisbar.

Man kann also feststellen, daß zwei Monate nach Beginn der Kalziuminfusion eine völlige Normalisierung des roten Blutbildes eingetreten war.

Beim weißen Blutbild sind die Myelozyten bereits in VII, d. h. einen Monat nach Beginn der Kalziuminfusion nicht mehr nachweisbar. Von IV bis VI fielen die Myelozyten kontinuierlich ab.

Dies ist offensichtlich auf die Beendigung der extramedulären Hämatopoese nach schrittweiser Übersiedlung ins Knochenmark zurückzuführen. Je geringer der Anteil von Leber und Milz an der Blutbildung wurde, desto weniger unreife Zellen fanden sich aufgrund der ungestörten Schranke Knochenmark/Blutbahn in der Peripherie. Der gleichzeitig zu erwartende Rückgang von Leber- und Milzgröße war nur relativ gering ausgeprägt, da er wohl durch das Aufholwachstum im Zuge der Besserung des Allgemeinzustandes maskiert wurde.

Der chronologische Zusammenhang zwischen dem Beginn der Kalziuminfusionen und der Normalisierung der Zellzahlen der weißen und roten Reihe ein bis zwei Monate später legt einen kausalen nahe. Als mögliche Erklärung bietet sich die Normalisierung des Hyperparathyreoidismus durch die intravenöse Kalziumzufuhr an. Ein Zusammenhang zwischen Hyperparathyreoidismus und Knochenmarkfibrose ist ja von

der sogenannten "Ostitis fibrosa" bei Morbus Recklinghausen bekannt. Durch die Verminderung der Fibrose entstand Raum für die Übersiedlung der Hämatopoese aus Leber und Milz ins Knochenmark.

Drei Punkte lassen jedoch auch eine Beteiligung von Vitamin D an der Besserung der Hämatopoese möglich erscheinen:

- Die gleichzeitige Verabreichung von hochdosiertem Kalziferol und intravenösem Kalzium läßt eine eindeutige Zuordnung von Therapie und Besserung des Patienten nicht zu.
- Zusätzlich wird diese Zuordnung durch den verzögerten Wirkungseintritt einer Kalziferoltherapie (siehe Kapitel 7.1.1) erschwert. So ist nicht mit Sicherheit auszuschließen, daß die Besserung der Normalisierung des Blutbildes in VI/VIII auf Steigerungen der Kalziferoldosen in IV zurückgehen.
- Ein wichtiges Argument ist der leichte Rückgang der Myelozyten und Erythroblasten im peripheren Blut bereits vor Beginn der Kalziuminfusion (IV in Tab. 23 und 24).

Es gibt mehrere Arbeiten (McCARTHY et al. 1984a und 1984b sowie ARLET et al. 1984), die auf Effekte von Vitamin D auf das Knochenmarkbindegewebe hinweisen:

- 1,25(OH)D verminderte die Synthese von Knochenmarkskollagen in analoger Weise wie beim Osteoid (Knochenkollagen).
- 1,25(OH)D förderte die Monozyten-/Makrophagenaktivität, die zum verstärkten Abbau von Knochenmarkskollagen führe.

Es ist aber fraglich, ob diese Vitamin D-Wirkungen bei unserem Patienten für die Besserung verantwortlich waren:

- Die mangelnde Wirksamkeit von Kalziferolen am Mineralstoffwechsel des Patienten zeigten sich in seiner Abhängigkeit von den Kalziuminfusionen. Wenn also die Blutbildung von Vitamin D positiv, der Knochenstoffwechsel aber nicht von dem Vitamin beeinflusst werden sollte,

müßte man andere, evtl. rezeptorunabhängige Mechanismen für die Kalziferolwirkung an der Blutbildung fordern. Zumindest der Kollagenabbau über Makrophagenaktivierung scheint mit einiger Sicherheit rezeptorabhängig zu sein (BHALLA et al. 1983, PROVVEDINI et al. 1983 und TEITELBAUM 1985) und dürfte somit bei unserem Patienten kaum für die Befundbesserung in Frage kommen.

- Auch andere Faktoren könnten für die Besserung des Blutbildes in IV verantwortlich sein, wie z. B. die verbesserte Ernährung aufgrund der Magensonde und der Gabe eines Multivitaminpräparates. Die Septikämien haben den Verlauf der unreifen Zellen im peripheren Blut wohl kaum beeinflußt; sie traten sowohl während der Besserung als auch nach dem Verschwinden der extramedullären Blutbildung auf und führten nicht zu auffälligen Veränderungen der Myelozyten- und Erythroblastenzahlen.

Zusammenfassend scheint bei A. M. die Übersiedlung der Hämatopoese ins Knochenmark eher von der Besserung des Serum-PTH infolge der Kalziuminfusionen als von der Kalziferoltherapie abzuhängen. Dies ist kein Widerspruch zu den Arbeiten von McCARTHY et al. 1984a und 1984b sowie ARLET et al. 1984 und auch nicht zu den Fallberichten von COOPERBERG et al. 1966 und YETGIN et al. 1982, in denen extramedulläre Blutbildung von rachitischen Kindern auf Vitamin D-Therapie ansprach. Neben einer eventuell direkten Wirkung von $1,25(\text{OH})\text{D}$ auf das Knochenmark könnte auch bei diesen Patienten eine indirekte Wirkung von Vitamin D auf das Serum-PTH ursächlich für die Besserung gewesen sein.

8.2 Eisenmangel

Nachdem eine typische Befundkonstellation für einen Eisenmangel vorlag (siehe Kapitel 6.2.2), führten wir eine orale Eisensubstitution durch. Die bereits im vorhergehenden Abschnitt diskutierte Erythroblastenkrise in II zeigte die Wirksamkeit dieser Therapie. Die Serumeisenspiegel unter Therapie schwankten mit 39 bis 168 $\mu\text{l/dl}$ stark (Tab. 22). Diese erheblichen Schwankungen treten unter Eisentherapie bei unterschiedlichen Intervallen Eisengabe/Blutentnahme auf, weil das intestinal absorbierte Eisen vom Organismus sehr schnell aus dem Serum aufgenommen wird. Das bei unserem Patienten im Normbereich schwankende Serumeisen ist also neben der Erythroblastenkrise ein weiterer Hinweis auf eine ungestörte Eisenresorption.

Trotz der offensichtlich normalen Eisenabsorption und trotz des Verschwindens der extremmedullären Hämatopoese blieben einige Laborparameter auffällig:

- Die Eisenbindungskapazität lag meist über der Norm und zeigte auch nach einem Jahr Eisentherapie keine Besserungstendenz (Tab. 22).
- Das Serumferritin, das anfangs an der unteren Normgrenze lag, sank im Verlauf weiter ab (Tab. 22).
- Das MCV lag ebenfalls meist unter der Norm und zeigte während des stationären Aufenthalts insgesamt keine Besserung (Tab. 23).

Diese Werte deuteten sämtlich auf eine persistierende, von der intestinalen Absorption unabhängige Eisenstoffwechselstörung hin. Zwei Möglichkeiten sind denkbar:

- Der $1,25(\text{OH})\text{D}$ -Rezeptordefekt könnte eine Funktionsstörung von Monozyten/Makrophagen des retikuloendothelialen Systems verursachen, die eine mangelhafte Eisenspeicherung und/oder -wiederverwertung bei der Zellmauserung nach sich ziehen könnte. Für diese Hypothese sprechen der Nachweis von $1,25(\text{OH})\text{D}$ -Rezeptoren in Monozyten/

Makrophagen (BHALLA et al. 1983 und PROVVEDINI et al. 1983) sowie die Persistenz der Befunde in Analogie zu anderen rezeptorabhängigen Symptomen des Patienten.

- Es könnte auch eine Eisenverwertungsstörung, ähnlich wie bei einer sideroachrestischen Anämie, vorliegen. Diese Anämie wird durch eine Störung der pyridoxalphosphat-abhängigen Deltaaminolävulinsäure (DALS)-Synthetase verursacht. Es resultiert eine verminderte Bildung von Häm aus seinem Grundbaustein DALS und in der Folge entsteht eine Eisenverwertungsstörung. Klinisch zeigen sich eine eisenrefraktäre, hypochrome Anämie und Eisenablagerungen im Knochenmark und anderen Organen.

Neben der hereditären Form der sideroachrestischen Anämie gibt es auch eine symptomatische Form bei Vitamin B₆-Mangel. Darüber hinaus ist von Fällen von sideroachrestischen Anämien bei angeborenem Ferritinmangel berichtet worden (KELLER/WISKOTT 1984). Es ist immerhin erstaunlich, daß A. M. mit seinen niedrigen Serumspiegeln von B₆ und Ferritin zwei Befunde aufwies, die vergesellschaftet mit einer sideroachrestischen Anämie auftreten können und zugleich ungenügend auf die Eisensubstitution ansprechen.

Da wir die Hypothese von der Speicherstörung des retikuloendothelialen Systems aufgrund des 1,25(OH)D-Rezeptordefektes eher für wahrscheinlich hielten, entschieden wir uns für die Fortsetzung der Substitution mit 5 bis 7 mg Eisen pro kg Körpergewicht und Tag.

8.3 Stammzellkultur unter Therapie

Die Ergebnisse der Stammzellkultur - kein Wachstum von Kolonien nach 7 Tagen, äußerst geringes nach 14 Tagen (Kapitel 5.3.) - zeigten, daß das Aspirat des Patienten kaum differenzierungsfähige Stammzellen enthielt. Drei Erklärungen bieten sich für diesen Mangel an:

- Das Aspirat stammte aus peripherem Blut.
- Das Aspirat stammte zwar aus dem Knochenmark, aber dort waren zum Zeitpunkt der Entnahme keine hämatopoetischen Stammzellen vorhanden.
- Das Aspirat stammte aus dem Knochenmark; es waren Stammzellen vorhanden, diese Zellen zeigten aber einen - durch Inkubation mit Vitamin D-Metaboliten - nicht behebbaren Differenzierungsdefekt.

CFU-GEMM-Kulturen, die mit MNC des peripheren Blutes durchgeführt wurden, zeigten ein reproduzierbares Wachstum von Kolonien, das aber signifikant geringer ist als das von Knochenmark-MNC. Dies wurde damit erklärt, daß auch peripheres Blut eine geringe Anzahl von pluripotenten hämatologischen Stammzellen aufweist (ASH et al. 1981).

Man könnte also vermuten, daß das Aspirat aus einem Blutgefäß unseres Patienten stammte. Es wäre möglich, daß es sich um Gefäße der Markhöhle handelte, da auf den histologischen Präparaten, welche aus dem gleichen Aspirat angefertigt wurden, eindeutig Teile dieser Höhle zu identifizieren waren.

Die in Tabelle 34 zusammengestellten Zahlen von Kolonien und Klustern sind zu klein, um daraus statistisch gesicherte Schlüsse zu ziehen. Die Summe der Kolonien und Kluster aus Patienten-MNC ohne Kalziferolinkubation war mit 14 etwa gleichgroß wie mit 1,25(OH)D-Inkubation verschiedener Konzentrationen (11 - 16). Es scheint also kein stimulierender Effekt von 1,25(OH)D auf die Differenzierung von Patientenstammzellen vorgelegen zu haben. Bei Inkubation mit 25(OH)D in verschiedenen Konzentrationen zeigte

sich keinerlei Koloniewachstum. Dies legt den Schluß nahe, Calcifediol habe einen inhibierenden Effekt auf die Stammzelldifferenzierung. Theoretisch wäre von der Vitamin D-Speicherform ein gleichartiger, aber wesentlich geringer ausgeprägter Effekt wie bei 1,25(OH)D zu erwarten gewesen, in unserem Fall also kein Unterschied zum kalziferolfreien Ansatz. Möglicherweise handelt es sich bei diesem völligen Fehlen von Wachstum um ein Artefakt; es zeigt jedenfalls, daß die Ergebnisse der CFU-GEMM-Stammzellkultur mit Vorsicht interpretiert werden müssen.

Obwohl sich also gegenüber den beiden vorhergehenden Biopsien, die weder knöcherne Strukturen noch Anteil einer Markhöhle enthalten hatten, eine deutliche Besserung zeigte, war zum Zeitpunkt der Aspiration offensichtlich die Übersiedlung der Stammzellpopulation ins Knochenmark noch nicht erfolgt. Dafür sprachen auch die noch hohen Erythroblastenzahlen von 220/ μ l im peripheren Blut ($n = 9$; VII in Tab. 23). Die Bildung von Spongiosa und einer - wenn auch fibrosierten - Markhöhle mit mesechyinalen, aber ohne hämatopoetische Zellen war erst ein Schritt auf dem Wege zu einer normalisierten, medullären Blutbildung. Deshalb war auch die Inkubation des Aspirats mit Kalziferolen wenig aussagekräftig.

Eine spätere Wiederholung der Aspiration mit nachfolgender Kalziferolinkubation, hätte vielleicht mehr Klarheit gebracht. Nach eingehender Abwägung wurde sie nicht durchgeführt, weil die rein akademische Fragestellung, ohne therapeutische Implikation, eine erneute Belastung des dreijährigen Patienten unseres Ermessens nach nicht rechtfertigte.

REICHEL et al. (1985) haben bereits gezeigt, daß 1,25(OH)D die Differenzierungsprozesse in Stammzellkulturen fördert. Die Erforschung dieser Zusammenhänge steht aber noch am Anfang, die Wirkmechanismen sind noch wenig bekannt. Die Beantwortung folgender Fragen ist von großem Interesse:

- Besitzen bereits die hämatologischen Stammzellen 1,25(OH)D-Rezeptoren oder werden diese erst im Lauf der Differenzierung exprimiert?
- Wirkt 1,25(OH)D direkt auf die Stammzellen oder durch mit Hilfe von anderen Zellen produzierten Faktoren? Hierbei könnte IL 3 eine Rolle spielen, das pluripotente hämatologische Stammzellen stimuliert (NICOLA et al. 1984) und dessen Produktionsrate von 1,25(OH)D abhängig ist (TRECHSEL et al. 1985).

8.4. Blutbild unter medullärer Hämatopoese

Hinsichtlich des roten Blutbildes fiel in den Abschnitten VIII - XII nur noch das mit Werten um $70 \mu^3$ erniedrigte MCV auf. Die übrigen Parameter waren im Normbereich (Tab. 23).

Das erniedrigte MCV ist möglicherweise auf die in Kapitel 8.2 diskutierte Eisenstoffwechselstörung zurückzuführen und wurde weiterhin durch Eisensubstitution behandelt.

Im weißen Differentialblutbild fiel während der Abschnitte IX bis XI eine Granulozytopenie mit 1 300 Zellen pro μ l auf, während sich die anderen Zellzahlen normalisierten (Tab. 24).

Bei der Normalisierung der Eosinophilen könnte neben der Besserung der extramedullären Hämatopoese auch die erfolgreiche Behandlung der anfangs vorliegenden Lambliasis eine Rolle gespielt haben, da diese Erkrankung mit erhöhter Eosinophilenzahl einhergehen kann.

Es stellt sich auch die Frage nach den Ursachen für die Normalisierung der Lymphozytenzahl, die anfangs erheblich zu der Leukozytose beigetragen hatte, und für das Zurückgehen der lymphatischen Reizformen. 1,25(OH)D hemmt im LTT die Aktivierung und Proliferation der Lymphozyten (TSOUKAS et al. 1984, RIGBY et al. 1984). Die Vitamin D-Stoffwechselstörung des Patienten bietet also eine einleuchtende Erklärung für die anfänglichen Befunde des Patienten. Eine Erklärung des Verlaufs ist dagegen wesentlich schwieriger. Da die Bildung der Lymphozyten nur zum Teil im Knochenmark stattfindet, kann die Besserung der extramedullären Hämatopoese wohl kein überzeugender Grund für die Befundbesserung sein. Darüber hinaus ist es auffällig, daß die Granulozytenzahl und -funktion (siehe Kapitel 9) nach der Besserung der extramedullären Blutbildung pathologisch war, während sich hinsichtlich der Lymphozyten eine deutliche Besserung konstatieren ließ. Wenn man die granulozytären Störungen auf den schweren 1,25(OH)D-Rezeptordefekt zurückführt, muß die Besserung der Lymphozytose auf

einem anderen Phänomen beruhen. Es liegen bis heute keine Forschungsergebnisse vor, die eine befriedigende Deutung dieses Phänomens ermöglichen würden.

Die niedrigen Granulozytenzahlen beruhen wahrscheinlich auf einer mangelnden Bildung aus Stammzellen. Dies ist ein Hinweis darauf, daß 1,25(OH)D bei der Regulierung der Produktionsrate beteiligt sein könnte, auch wenn die Arbeit von REICHEL et al. (1985) in vitro vor allem eine Vermehrung von Makrophagenkolonien unter Vitamin D-Inkubation zeigte.

Die häufigen Septikämien des Patienten (siehe folgendes Kapitel) zeigen deutlich, daß die Granulozytopenie keinen grenzwertigen Befund mit fraglicher klinischer Relevanz darstellt. Im Verein mit der pathologischen Chemotaxis führt sie beim Patienten zu einer bedrohlichen Abwehrschwäche, die trotz erfolgreicher antirachitischer Therapie persistierte.

Neben der mangelnden Gewichtszunahme ist die erhöhte Infektanfälligkeit der zweite Faktor, der die Prognose des Patienten, trotz der eingetretenen deutlichen Besserung, in Frage stellt.

9. VERLAUF DER IMMUNOLOGISCHEN BEFUNDE

Es ist eine altbekannte Tatsache, daß Rachitiker besonders infektionsgefährdet sind. Ein Überblick dazu findet sich in STRÖDER 1973 und 1975.

In den letzten Jahren wurden wesentliche Fortschritte erzielt:

- Es gelang der Nachweis von 1,25(OH)D-Rezeptoren in Tumorzelllinien von B-, T- und non-B-, non-T-Lymphozyten, in menschlichen, in vitro aktivierten B- und T-Lymphozyten sowie in menschlichen Monozyten (PROVEDINI et al. 1983, BHALLA et al. 1983).
- Es konnte gezeigt werden, daß 1,25(OH)D in leukämischen Zelllinien (U937 und HL-60) die Differenzierung maligner Zellen insbesondere in Richtung Monozyten fördert (MIYAURA et al. 1981, RIGBY et al. 1984a).
- Wie bereits in Kapitel 8 erwähnt, konnte auch der differenzierungsfördernde Effekt von 1,25(OH)D auf menschliche Knochenmarkstammzellen nachgewiesen werden (REICHEL et al. 1985). Auch hier zeigte sich eine Zellreifung in Richtung Makrophagen.
- Des weiteren konnte gezeigt werden, daß 1,25(OH)D die Proliferation von T-Lymphozyten in vitro inhibiert (TSOUKAS et al. 1984, RIGBY et al. 1984b).

Diese aktuellen Forschungsergebnisse weisen darauf hin, daß 1,25(OH)D eine wichtige Rolle bei Immunprozessen spielt. Sie bedürfen aber, wie alle in vitro-Experimente, entsprechender klinischer Befunde zur Überprüfung ihrer praktischen Relevanz in vivo.

Die immunologische Untersuchung unseres Patienten ist also von größtem Interesse. Leider wurden bei der stationären Aufnahme keine speziellen immunologischen Labortests durchgeführt, da zu diesem Zeitpunkt kein Hinweis auf Störungen dieses Gebiets vorlag. Dies erschwert eine Verlaufsbeurteilung: Zwar kann von pathologischen Befunden unter Therapie mit großer Wahrscheinlichkeit angenommen

werden, daß diese schon vor Therapie bestanden, bei Normalbefunden unter Therapie muß jedoch die Frage offen bleiben, ob diese auf einer eventuellen Besserung unter hochdosiertem Kalziferol und/oder intravenösem Kalzium beruhen.

Das Blutbild unseres Patienten gibt zu folgenden Überlegungen Anlaß:

- Nach Besserung der extramedullären Blutbildung zeigte sich eine Granulozytopenie, aber eine als normal zu bezeichnende Monozytenzahl. Das läßt vermuten, daß das Fehlen der von REICHEL et al. 1985 beobachteten Stimulation des Monozytenwachstums aus Stammzellen bei unserem Patienten nur eine geringe Rolle spielte. Der schwere $1,25(\text{OH})\text{D}$ -Rezeptordefekt hätte sonst wohl zu einer deutlichen Verminderung der Monozyten in der Peripherie führen müssen.
 - Bisher wurde noch nicht über Experimente berichtet, die einen Zusammenhang der Granulozytopenie mit Kalziferolkonzentrationen untersuchen. Die Granulozytopenie des Patienten weist darauf hin, daß hier ein vielversprechendes Forschungsfeld zur Erweiterung der Kenntnisse über die Wirkungen von Vitamin D auf das Immungeschehen brach liegt.
- Dies gilt ebenso für die Beeinflussung der Granulozytenfunktion von Vitamin D, die im folgenden diskutiert wird.

9.1 Granulozytenchemotaxis

Klinische Arbeiten zeigten eine Verminderung der Granulozytenfunktion bei Vitamin D-Mangel-Rachitis:

- STRÖDER et al. 1970 fanden bei 30 rachitischen Kindern eine verminderte Phagozytose von E. coli und vermuteten eine Verminderung der hitzestabilen Opsoninkomponente als Ursache. Die bakterizide Aktivität der Zellen, die Komplementaktivität und die Immunglobulinspiegel der Patienten waren unauffällig.
- LORENTE et al. 1976 fanden bei 38 rachitischen Kindern eine Verminderung sowohl der gerichteten Chemotaxis als auch der ungerichteten Migration der Neutrophilen in E. coli-aktiviertem Serum. In Zymosan-aktiviertem Serum dagegen war die Chemotaxis nicht gegenüber den Kontrollen vermindert. Das Komplementsystem war unauffällig.

In beiden Fällen wurde eine inhibitorische Wirkung des Patientenserums ausgeschlossen.

Bei dem Patienten A. M. ist die Granulozytenchemotaxis signifikant ($p < 0,028$) auf 57 % der gleichaltrigen Kontrollen vermindert. Im Vergleich zu der Arbeit von LORENTE et al. (1978) erscheint der Defekt als wesentlich ausgeprägter, da bei deren Patienten, im Gegensatz zu unserem, die Chemotaxis mit einer stark chemotaktisch wirkenden Substanz normalisiert werden konnte.

Es ist dabei zu betonen, daß in der Zeit von Januar bis August 1985, in der die Untersuchungen durchgeführt wurden, keine Myelozyten und Jugendlichen mehr im peripheren Blut vorlagen und sich die Zahl der Stabkernigen normalisiert hatte (siehe Tab. 24). Es ist damit ausgeschlossen, daß unreife und damit weniger bewegliche Granulozyten eine erniedrigte Chemotaxis vortäuschten.

Verschiedene Therapieformen im Untersuchungszeitraum (orales und intravenöses Kalzium sowie wechselnde Dosen verschiedener Kalziferole) schienen keine Auswirkungen auf das Ausmaß der Chemotaxisverminderung zu haben. Leider

wurde die Chemotaxis vor Therapie nicht gemessen, so daß offen bleibt, ob die Therapie überhaupt zu einer Befundveränderung geführt hat.

Unser Patient ist der einzige mit VDAR II, bei dem ein Defekt der Granulozytenchemotaxis nachgewiesen wurde. Die fünf Patienten aus drei Familien, die von WEISMAN et al. (1985) immunologisch untersucht wurden, zeigten eine normale Monozytenchemotaxis; die Granulozytenchemotaxis wurde nicht bestimmt.

In dieser Arbeit wurde dagegen bei den 5 Patienten ein Defekt der intragranulozytären *Candida albicans*-Abtötung beschrieben, der bei unserem Patienten nicht nachweisbar war.

Bei A. M. wurde die Chemotaxis zu einem Zeitpunkt untersucht, als sich die rachitischen Symptome unter Therapie bereits wesentlich gebessert hatten. Auch bei den immunologischen Untersuchungen von WEISMAN et al. (1985) kann man davon ausgehen, daß sie unter Therapie durchgeführt wurden, auch wenn dies im Bericht nicht vermerkt wird. Bei allen immunologisch untersuchten VDAR II-Patienten handelt es sich bei den pathologischen Befunden offensichtlich nicht um Auswirkungen eines schlechten Allgemeinzustandes aufgrund schwerster, unbehandelter Rachitis, sondern um unter Therapie persistierende Befunde, die möglicherweise durch die $1,25(\text{OH})\text{D}$ -Rezeptordefekte verursacht werden.

Die vorliegenden Arbeiten zeigen, daß bei VDAR II bzw. Vitamin D-Mangel unterschiedliche Störungen der Granulozytenfunktionen vorliegen können. Die Zusammenhänge zwischen diesen Störungen und einem Vitamin D-Mangel bzw. den $1,25(\text{OH})\text{D}$ -Rezeptordefekten auf molekularer Ebene sind unbekannt. Bisher wurde nicht über Versuche berichtet, $1,25(\text{OH})\text{D}$ -Rezeptoren in Granulozyten nachzuweisen.

Da intrazelluläre Kalziumpools und Kalziumionenkonzentrationen bei der Granulozytenaktivierung eine Rolle spielen, liegt die Vermutung nahe, daß $1,25(\text{OH})\text{D}$ über diese Stellgrößen in die Regulation der Zellfunktionen eingreift.

Hinsichtlich der Granulozytenmobilität wäre auch denkbar, daß Kalziferol über die intrazelluläre Kalziumkonzentration die Kontraktionsfähigkeit der Mikrofilamente beeinflussen könnte.

Für die Untersuchung der pathophysiologischen Mechanismen defekter Granulozytenfunktionen bei Vitamin D-Stoffwechselstörungen können Zellen von VDAR II-Patienten von großem Nutzen sein, insbesondere bei der Frage, ob rezeptorabhängige Kalziferolwirkungen eine wesentliche Rolle spielen. Deshalb untersuchten wir, ob sich die Granulozytenchemotaxis bei dem Patienten durch Kalzium oder 1,25(OH)D-Zugaben in vitro normalisieren ließe. In vivo hatte ja weder hochdosierte Kalziferoltherapie noch Normalisierung des Serumkalziums durch Infusionen zu normaler Chemotaxis geführt bzw. die Septikämien verhindert.

Insgesamt konnte, wie die Tabelle 31 zeigt, keine Normalisierung der Granulozytenchemotaxis durch die verschiedenen Modifikationen erreicht werden. Die Zellen der Patienten zeigte unter allen Versuchsbedingungen gegenüber den Kontrollen verminderte Werte.

Es fällt auf, daß zur verminderten Chemotaxis des Patienten nicht nur eine verminderte gerichtete Wanderung, sondern auch eine vermehrte ungerichtete Motilität beitrug. Dies könnte bedeuten, daß nicht die Bewegungsfähigkeit der Patientenzellen an sich gestört ist, sondern eher die Reaktion auf das chemotaktische Agens. Vielleicht kann man sich die Vorgänge an den Mikrofilamenten der Granulozyten in einer gewissen Analogie zu den Herzmuskelzellen vorstellen: Die erhöhte spontane Erregbarkeit des Herzens bei Hypokalzämie entspräche dann der erhöhten ungerichteten Motilität der Granulozyten, die Verminderung der kardialen Kontraktionskraft der verminderten gerichteten Zellwanderung.

Unter Zugabe von Kalzium und nicht modifizierten Platten zeigte sich beim Patienten eine Zunahme der gerichteten und keine Veränderung der erhöhten ungerichteten Bewegung. Es resultierte insgesamt eine Verbesserung des chemotakti-

schen Index, der aber dennoch deutlich unter der Kontrolle lag. Es ist also nicht auszuschließen, daß die Normalisierung des Serumkalziums durch die Infusionen beim Patienten in vivo die Granulozytenfunktion etwas verbessert.

Unter Zugabe von $1,25(\text{OH})\text{D}$ kam es zu einer deutlichen Verringerung der gerichteten Zellwanderung und zu einer leichten Verminderung der ungerichteten. Es resultierte eine Verringerung der Chemotaxis. Dieses Ergebnis in vitro steht in Einklang mit der Tatsache, daß durch die Kalziferoltherapie keine klinische Besserung des Patienten bewirkt werden konnte. Bei den Kontrollen kam es sowohl unter Kalzium- als auch $1,25(\text{OH})\text{D}$ -Zugabe zur Verringerung der gerichteten und Zunahme der ungerichteten Zellwanderung. Dies zeigt vor allem, daß die Versuchsbedingungen für die Routine-Chemotaxisbestimmung optimal gewählt wurden.

Auf den modifizierten, kalziumangereicherten Platten zeigten die Patientenzellen bei niedrigen $1,25(\text{OH})\text{D}$ -Konzentrationen (D1 und D2) eine Zunahme der Chemotaxis, die aber vor allem auf einer Verminderung der ungerichteten Motilität beruhte. Die Kontrollen zeigten eine in etwa unverminderte Chemotaxis bei verminderter gerichteter und ungerichteter Zellwanderung. Bei der Zugabe der höchsten $1,25(\text{OH})\text{D}$ -Konzentration kam es zu einer drastischen Verminderung der Zellwanderung bei Patient und Kontrolle, die wohl als toxischer Effekt bezeichnet werden kann. Das Gleiche geschah auch nach einer zusätzlichen Zugabe von Kalzium zur Zellsuspension des Patienten.

Zusammenfassend kann man feststellen, daß die Granulozytenchemotaxis des Patienten erheblich gestört war und auch durch Modifikationen des Versuchsaufbaus nicht normalisiert werden konnte. Obwohl diese Modifikationen als Einzelexperiment zurückhaltend beurteilt werden müssen, scheinen allein Kalziumzugaben - sei es zur Zellsuspension oder zum Agar - einen positiven Effekt auf die Patientenzellen zu haben. Die ungerichtete Motilität der Patientenzellen zeigt, daß die Beweglichkeit nicht grundsätzlich

gestört ist. Diese Tatsache steht in einem gewissen Gegensatz zu den Beobachtungen von LORENTE et al. (1976). Dabei sind aber eine Reihe von Unterschieden zwischen den beiden Experimenten hinsichtlich der Erkrankung (Vitamin D-Mangel versus VDAR II) und der Methodik (Boyden-Kammer versus Agarose-Technik und bakterienaktiviertes Serum versus f-Methionyl-Lencyl-Phenylalanin als chemotaktisches Agens) zu bedenken.

Das Experiment konnte natürlich nicht klären, ob es sich bei der Chemotaxis um einen 1,25(OH)D-Rezeptor-abhängigen Prozeß handelt. Hierzu sind weitergehende Untersuchungen nötig. Die verschiedenen Granulozytenfunktionsdefekte bei Vitamin D-Stoffwechselstörungen sind für die Zukunft ein vielversprechendes Forschungsgebiet.

9.2 Interleukine

In den letzten 25 Jahren wurden über 100 verschiedene biologische Aktivitäten von Lymphokinen beschrieben (Übersicht bei COHEN et al. 1979). Ende der 70er Jahre wurde klar, daß viele dieser Wirkungen von einzelnen Faktoren ausgelöst wurden. Es wurden zwei Lymphokine benannt, denen eine zentrale Rolle für das Immungeschehen zugeschrieben wurde (ARDEN et al. 1979):

- Interleukin 1 (IL 1), produziert von aktivierten Makrophagen, unterstützt die Immunantwort von T- und B-Lymphozyten. Seine vermutlich wichtigsten Wirkungen sind die Stimulation der IL 2-Produktion in T-Zellen (SMITH et al. 1980) und die Erhöhung der Körpertemperatur in vivo, die zur Steigerung von der Infektabwehr beiträgt (ROSENWASSER et al. 1981). IL 1 scheint auch eine Rolle beim Knochenumsatz zu spielen (SKJODT et al. 1985).
- Interleukin 2 stimuliert hauptsächlich die Proliferation von T-Lymphozyten (SMITH 1980).

In der Folge wurde ein weiterer Faktor, der von T-Zellen produziert wird und die Kolonienbildung von Stammzellen fördert, Interleukin 3 benannt (IHLE et al. 1983; siehe Kapitel 8.3).

Die Interleukine wurden bis zur Homogenität gereinigt, und es wurden entsprechende Antikörper hergestellt. Die Gene wurden geklont und mit Hilfe von Mikroorganismen wurden rekombinante Interleukine hergestellt (Übersicht bei GEARING et al. 1985).

Diese Fortschritte ermöglichten eine intensive Erforschung der Bedeutung der Interleukine. Dabei stellte sich heraus, daß 1,25(OH)D in vitro die IL 2-Synthese und die Lymphozytenproliferation hemmt (TSOUKAS et al. 1984). Der anti-proliferative Effekt von 1,25(OH)D im LTT ist durch eine Blockierung der Zellen in der G₀-Phase bedingt (PROVVEDINI 1985) und kann durch Zugabe von IL 2 erheblich vermindert werden (ZARRABEITIA et al. 1985).

So überrascht es nicht, daß sowohl bei unserem als auch bei fünf weiteren untersuchten VDAR II-Patienten (KOREN et al. 1985) der Lymphozytentransformationstest Normalbefunde ergab. KOREN et al. (1985) stellten weiter fest, daß die Lymphozytentransformation bei Gesunden, nicht aber bei den VDAR II-Patienten durch Zugabe von 1,25(OH)D inhibiert werden kann. Dies spricht dafür, daß die Wirkung von 1,25(OH)D auf die Lymphozytenproliferation rezeptorabhängig ist.

Die obengenannten Arbeiten veranlaßten uns, auch die Interleukinproduktion bei dem Patienten zu untersuchen. Die Ergebnisse (siehe Kapitel 5.2) zeigten, daß die Immunozyten des Patienten in vitro zu einer IL 1- und IL 2-Produktion in der Lage sind, die sich nicht von gesunden Kontrollen unterscheidet.

Die Ergebnisse dieser in vivo-Bestimmungen sind aber nur mit größter Zurückhaltung auf die Verhältnisse in vivo zu übertragen. Die Indikatorzellen weisen zwar eine große Sensitivität, aber eine relativ geringe Spezifität auf. Eine Reihe von Faktoren wie Prostaglandine, Kulturzusätze, Mitogene und auch andere Lymphokine als das zu messende, befinden sich in den Ansätzen oder werden von den Zellen produziert. Sie alle können eine eventuell verminderte Syntheserate maskieren (GEARING et al. 1985).

Nur reproduzierbare, erhebliche Abweichungen der IL-Produktion von den Kontrollen erlauben es also, auf einen Defekt in den untersuchten Zellen zu schließen. Von unserem Patienten kann man also sagen, daß die Immunozyten mit einiger Sicherheit grundsätzlich die Fähigkeit haben, Interleukin zu bilden; ob sie dies auch in vivo in adäquater Form tun, ist nicht zu beurteilen.

Die Messung von Interleukinserumspiegeln mit Radioimmunoassays, die sich bereits in Entwicklung befinden, wird es bald ermöglichen, Näheres über die Verhältnisse in vivo zu erfahren.

Es ist naheliegend, daß die Beeinflussung der Interleukinsynthese durch Vitamin D rezeptorabhängig erfolgt, da die

produzierenden Zellen 1,25(OH)D-Rezeptoren aufweisen. Insofern war der Normalbefund der IL 2-Synthese nicht überraschend, da aufgrund des Rezeptordefekts des Patienten eine inhibierende Vitamin D-Wirkung nicht zum Tragen kommt.

Die IL 1-produzierenden Zellen - Makrophagen - besitzen 1,25(OH)D-Rezeptoren (BHALLA et al. 1983). Ihre Proliferation (REICHEL et al. 1985), Differenzierung (TEITELBAUM et al. 1985) und Aktivität (BAR-SHAVIT et al. 1981 und ABE et al. 1984) wird durch 1,25(OH)D stimuliert. Nachdem TRECHSEL et al. (1985) gezeigt haben, daß 1,25(OH)D die IL 1-Synthese fördert, wäre bei unserem Patienten eher eine verminderte IL 1-Produktion zu erwarten gewesen. Die Frage, warum dies nicht der Fall war - insbesondere, ob die IL 1-Stimulation durch 1,25(OH)D rezeptorabhängig ist - kann aus den vorliegenden Daten nicht beantwortet werden.

Es wäre sehr interessant gewesen, die Interleukinbestimmungen (insbesondere von IL 1) unter Inkubation mit steigenden Konzentrationen von 1,25(OH)D zu wiederholen, um zu sehen, ob 1,25(OH)D in vitro die Synthese von IL 1 und 2 beeinflußt. Leider erreichten uns die obigen Ergebnisse erst nach Abreise des Patienten nach Arabien, so daß keine weiteren Untersuchungen mehr durchgeführt werden konnten.

Die Erforschung der Zusammenhänge zwischen dem Vitamin D-Stoffwechsel und den Interleukinen steht erst am Anfang. Sicher ist, daß 1,25(OH)D die Produktion von allen 3 Interleukinen beeinflußt (Stimulation von IL 1 und IL 3, Inhibition von IL 2; TRECHSEL et al. 1985). Der Nachweis, daß diese Regulationen rezeptorabhängig erfolgen, wurde noch nicht geführt. Insbesondere ist noch offen, welche klinische Bedeutung der Einfluß von Vitamin D auf die Interleukinproduktion hat. Hier könnten entsprechende Untersuchungen an VDAR II-Patienten wesentlich zur Klärung beitragen.

9.3 Infektionsanfälligkeit des Patienten

Rachitische Kinder neigen vermehrt zu Infektionen (STRÖDER 1975). Die bei dem Patienten aufgetretenen dermalen Infektionen (siehe Kapitel 4.6.3) können nicht als sicheres Zeichen für eine gestörte Immunabwehr gewertet werden, da solche Infektionen gelegentlich auch bei immunologisch normalen Kindern vorkommen. Eine Einstufung der Infektionshäufigkeit ist bei dem Patienten besonders problematisch, da er wegen seines über einjährigen stationären Aufenthaltes mehr als andere Kinder krankenhaustypischen Problemkeimen ausgesetzt war.

Die vier Septikämien des Patienten aber sprechen klar für eine erhöhte Infektionsanfälligkeit. Bei den gegebenen sehr guten hygienischen und antiseptischen Maßnahmen wäre selbst unter der Infusionstherapie, die den Keimen eine zusätzliche Eintrittspforte verschaffte, eine solche Indizienz an Septikämien kaum zu erwarten gewesen.

Eine Reihe von immunologischen Befunden unterstützt die Hypothese der erhöhten Infektanfälligkeit:

- Die Granulozytopenie, die nach Ende der extramedullären Hämatopoese auftrat (siehe Kapitel 8.4).
- Die Störung der Granulozytenchemotaxis, die unter Therapie persistierte (siehe Kapitel 9.1).
- Die mangelhafte Bildung von Lipoid A-Antikörpern der IgG-Klasse trotz mehrfachen Infektionen mit gramnegativen Keimen (siehe Kapitel 4.6.3). Lipoid A ist ein Teil der LPS, die sich in der Zellwand gramnegativer Bakterien befinden.

Vor allem der letztgenannte Punkt weist auf eine mögliche Verknüpfung von Vitamin D-Stoffwechsel und Immunsystem hin:

- REICHEL et al. 1985 haben gezeigt, daß menschliche Makrophagen in vitro nach Inkubation mit Lipopolysacchariden vermehrt $1,25(\text{OH})\text{D}$ synthetisieren. Lipoid A konnte als stimulierender Teil der LPS identifiziert werden.

- Es konnte gezeigt werden, daß 1,25(OH)D in vitro Makrophagen aktiviert: Es fördert ihre Fusion (ABE et al. 1983), steigert ihren Glukoseverbrauch, ihre Zytotoxizität und die Expression von Fc-Rezeptoren (ABE et al. 1984).

Nach ihrer Aktivierung durch Kontakt mit den Erregern geben die Makrophagen Informationen an Lymphozyten weiter, die Voraussetzung für weitere Schritte der Immunantwort sind. In den zitierten Arbeiten konnte bereits experimentell gezeigt werden, daß 1,25(OH)D bei der Ankurbelung der Immunreaktion auf gramnegative Erreger eine Rolle spielt: Nach Kontakt mit Lipoid A bilden Makrophagen vermehrt 1,25(OH)D, das wiederum zur Aktivierung weiterer Makrophagen führt. Es ist anzunehmen, daß dieser Vorgang rezeptorabhängig abläuft; 1,25(OH)D-Rezeptoren in Makrophagen wurden nachgewiesen (BHALLA et al. 1983 und PROVVEDINI et al. 1983).

Eine Störung der Makrophagenaktivierung durch 1,25(OH)D nach Lipoid A-Kontakt ist bei dem Patienten wahrscheinlich: Da davon auszugehen ist, daß die 1,25(OH)D-Rezeptoren seiner Makrophagen den gleichen Defekt zeigen wie seine Fibroblasten, können diese Zellen nicht adäquat auf lokale Konzentrationserhöhungen von 1,25(OH)D reagieren. In den Organismus eingedrungene gramnegative Bakterien können so nicht wie bei normalem Immunsystem sofort inaktiviert werden und vermehren sich in der Folge so stark, daß es zu manifesten Infektionen kommt.

Die Septikämien des Patienten, bei denen stets gramnegative Keime in den Blutkulturen nachgewiesen wurden, zeigen deutlich die klinische Relevanz der Vitamin D-Stoffwechselstörung für das Immunsystem des Patienten. Die mangelnde Bildung von Anti-Lipoid A-IgG nach den Septikämien zeigt, daß offensichtlich auch nachgeordnete Schritte der Abwehr von gramnegativen Infektionen gestört sind.

Weiter fällt auf, daß die in Kapitel 9.1 zitierten Arbeiten über die Granulozytenfunktion bei Vitamin D-Mangel

verminderte Phagozytose (STRÖDER et al. 1970) und Chemotaxis (LORENTE et al. 1976) ebenfalls gegenüber gramnegativen Bakterien (*E. coli*) zeigten. Auch hier besteht möglicherweise ein Zusammenhang zwischen mangelnder Vitamin D-Wirkung und gestörter Immunfunktion gegenüber gramnegativen Keimen. Bei den Granulozyten konnte im Gegensatz zu anderen Immunzellen bisher weder 1,25(OH)D-Synthese nach Lipoid A-Inkubation (REICHEL et al. 1985) noch 1,25(OH)D-Rezeptoren nachgewiesen werden. Gerade weil die pathophysiologischen Zusammenhänge zwischen Vitamin D und der Granulozytenfunktion noch völlig im Dunkeln liegen, könnten entsprechende Untersuchungen wichtige neue Erkenntnisse zutage fördern.

Es ist günstig für die Prognose des Patienten, daß die Septikämien nur nach mehrtägiger Dauerinfusion auftraten und mit gezielter Antibiotikagabe effektiv zu behandeln waren. Unter den zwölfstündigen intermittierenden Infusionen trat dagegen bisher keine Septikämie auf. Diese sind also aus immunologischer Sicht zu verantworten, während gegenüber Dauerinfusionen nach den vorliegenden Erfahrungen äußerste Zurückhaltung am Platze ist.

Ein Nebebefund war das vorübergehende Auftreten von Schambehaarung nach den Septikämien im Januar und August 1985 (siehe Kapitel 4.6.6). Die Untersuchung der Sexualhormone in Plasma und Urin ergaben Normalbefunde (siehe Kapitel 4.6.1). Ein Zusammenhang mit der Grunderkrankung des Patienten ist kaum wahrscheinlich. Eine eventuelle Störung der 1,25(OH)D-Rezeptoren an den Haarwurzeln (siehe Kapitel 3.2.7) würde eher eine Verminderung des Haarwachses erwarten lassen. Es ist nicht ausgeschlossen, daß es sich um eine unerwünschte Nebenwirkung der bei beiden Septikämien intravenös angewendeter Antibiotika (Cefotaxim und Tobramycin) handeln könnte. Da die Schamhaare jeweils nach einigen Wochen wieder verschwanden, wurden keine weiteren diagnostischen oder therapeutischen Maßnahmen durchgeführt.

10. Zusammenfassung

1. Vitamin D-abhängige Rachitis Typ II (VDAR II) ist eine sehr seltene, autosomal rezessiv vererbte Störung der Effektor-Rezeptor-Interaktion für 1,25(OH)D. In vitro können die Rezeptordefekte aufgrund ihrer Lokalisation in Zytosol und Nukleus unterschieden werden.

Ein 20 Monate alter arabischer Junge mit schwerer VDAR II wird vorgestellt. Extreme Skelettdemineralisation bei nur mäßig niedrigem Serumkalzium und eine starke Knochenmarksfibrose zeigen, daß bei der Rachitis des Patienten die Auswirkungen des sekundären Hyperparathyreoidismus im Vordergrund standen. An seinen Fibroblasten konnte in High- und Low-Affinity-Tests spezifische Bindung von 1,25(OH)D weder in Zytosol noch im Nukleus nachgewiesen werden.

2. Der Patient zeigte keine Besserung unter Tagesdosen bis zu 99μ 1,25(OH)D und 10 Mio. I.E. D₃ sowie hochdosiertem oralem Kalzium, besserte sich aber eindrucksvoll unter Kalziuminfusionen. Sein intravenöser Kalzium-Bedarf lag bei etwa 220 mg pro kg Körpergewicht und Woche. Wir führten intermittierende 12stündige Infusionen durch, um bei der Immundefizienz des Patienten das Infektionsrisiko so gering wie möglich zu halten.

Die gegenüber den verabreichten Höchstdosen relativ geringe D₃-Menge von 200.000 I.E. pro Tag wurde trotz offensichtlicher Erfolglosigkeit der Kalziferoltherapie weitergeführt, damit hohe 1,25(OH)D-Serumspiegel eine eventuelle Teilremission sichtbar werden lassen.

3. Der Verlauf der Knochendichte des Patienten wurde mit dualer Photonenabsorptiometrie verfolgt. Dieses Verfahren erlaubt eine exakte Quantifizierung der Skelettdemineralisation bei geringer Strahlenbelastung.

Die Knochendichte des Patienten wuchs in einem Jahr auf das 4,04fache an. Dabei zeigte sich eine Korrelation

der Dichtezunahme mit der intravenösen Kalziumdosis, nicht aber mit den oralen Kalziferolgaben. Die Röntgenbilder unter Therapie zeigten, daß trotz Verbesserung der Mineralisation die Knochenstruktur pathologisch blieb. Dies läßt im Gegensatz zu neueren tierexperimentellen Arbeiten vermuten, daß zur Rachitisheilung die Normalisierung des Serumkalziums nicht ausreicht, sondern auch eine direkte Vitamin D-Wirkung am Knochen notwendig ist.

4. Erstmals wurde bei einem VDAR II-Patienten die gastrointestinale Kalziumabsorption mit stabilen Isotopen gemessen: Es wurde eine 50 %ige Absorption einer physiologischen, aber nur eine 5 %ige Absorption einer pharmakologischen oralen Kalziumdosis festgestellt. Trotz der Endorganresistenz gegen $1,25(\text{OH})\text{D}$ kam es also zu einer nachweisbaren intestinalen Kalziumabsorption, die aber offenbar nicht für eine erfolgreiche orale Rachistherapie ausreichte. Es stellte sich heraus, daß die orale Kalziumdosis bei mangelnder Absorption nicht ad libitum gesteigert werden darf, weil sonst durch die Bildung nicht absorbierbarer Komplexe aus Kalzium und Fettsäuren die Stuhlfettausscheidung pathologisch ansteigt.
5. Erstmals wird in der vorliegenden Arbeit bei einem VDAR II-Patienten extramedulläre Hämatopoese mit Hepatosplenomegalie und Knochenmarksfibrose beschrieben. Im Blutbild fanden sich zahlreiche Erythroblasten und Myelozyten, da in Leber und Milz die Schrankenfunktion für den Übertritt unreifer Zellen in die Blutbahn gering ausgeprägt ist.

Diese Symptome wurden bereits gelegentlich bei Vitamin D-Mangelrachitis beobachtet und als Anaemia pseudoleucaemia infantum JAKSCH-HAYEM bezeichnet. Obwohl der Vitaminmangel für die Ursache der Blutbildungsstörung gehalten wurde, war über die genaueren Zusammenhänge wenig bekannt.

Beim Patienten trat die Befundnormalisierung 6 bis 8 Wochen nach Beginn der Kalziuminfusionen ein. Sein hochgradiger 1,25(OH)D-Rezeptordefekt macht dabei eine direkte Kalziferolwirkung unwahrscheinlich. Der Zeitpunkt der Besserung spricht dafür, daß die Suppression des sekundären Hyperparathyreoidismus durch das parenterale Kalzium über die Verminderung der Knochenmarksfibrose zur Normalisierung der Blutbildung führte.

6. Der Patient zeigte bei Aufnahme typische Befunde eines Eisenmangels. Eine nur geringgradige Besserung unter langfristiger Eisensubstitution läßt vermuten, daß nicht nur ein alimentäres Defizit, sondern vielleicht auch eine Eisenstoffwechselstörung vorlag. Möglicherweise handelt es sich um einen Vitamin D-abhängigen Defekt der Eisenphagozytose durch Makrophagen des retikuloendothelialen Systems, die 1,25(OH)D-Rezeptoren besitzen.
7. Erstmals wurde auch bei einem VDAR II-Patienten ein Defekt der Granulozytenchemotaxis nachgewiesen, der unter Therapie persistierte und sich in vitro nicht durch Zugabe von 1,25(OH)D und Kalzium zum Ansatz normalisieren ließ.

Nachdem bei anderen VDAR II-Patienten ein Defekt der intragranulozytären Candida-Abtötung beschrieben wurde, liegt ein Zusammenhang zwischen Vitamin D-Stoffwechsel und Granulozytenfunktion nahe. Seine pathophysiologischen Grundlagen sind noch unbekannt.

8. In neuerer Literatur wurde gezeigt, daß 1,25(OH)D bei der Initiierung der Immunantwort gegen gramnegative Bakterien über Lipoid A, einem Wandbestandteil dieser Keime, eine Rolle spielt. Mehrfache Septikämien mit gramnegativen Bakterien und unmeßbare Serumspiegel von Anti-Lipoid A-IgG nach den Infektionen weisen bei dem Patienten darauf hin, daß die Abhängigkeit der Immunreaktion gegen gramnegative Keime von einer ungestörten Vitamin D-Wirkung klinische Relevanz zukommt. Die immu-

nologischen Befunde des Patienten bedeuten eine klinische Bestätigung der experimentell abgeleiteten Hypothese, daß $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ nicht nur ein Hormon des Mineralstoffwechsels, sondern auch ein wichtiger Mediator lokaler Immunprozesse ist.

9. Die Prognose der VDAR II ist zweifelhaft. Es ist wahrscheinlich, daß die Letalität von bisher 33 % durch die intravenöse Kalziumtherapie verringert werden kann.

Alopezie und negative 24-Hydroxylase-Induktion in der Fibroblastenkultur sind Zeichen für eine schwere VDAR II. Im vorliegenden Fallbereich korrelierte das negative Resultat des in vitro-Tests besser mit dem schweren Verlauf der Erkrankung als der normale Haarwuchs. Damit wurde bestätigt, daß der 24-OHase-Test der wichtigste prognostische Parameter ist und bei allen VDAR II-Patienten durchgeführt werden sollte.

Die individuelle Prognose des Patienten wird durch die Erfolglosigkeit der Kalziferoltherapie, seine erhöhte Infektionsanfälligkeit und seine mangelnde Gewichtszunahme beeinträchtigt. Hoffnung geben die gute Wirksamkeit der Kalziuminfusionen und das relativ häufige Auftreten von Spontanremissionen bei VDAR II.

11. LITERATURVERZEICHNIS

- AARDEN L. A., Brunner T. K., Cerottini J. C., Dayer J. M., De Weck A. L., Dinarello C. A. und 28 weitere Koautoren (1979): Revised nomenclature for antigen-nonspecific T cell proliferation and helper factors. *J Immunol* 123: 2928-2929.
- ABE E., Miyaura C., Tanaka H., Shiina Y., Kuribayashi T., Suda S., Nishii Y., De Luca H. F., Suda T. (1983): 1 α ,25-Dihydroxyvitamin D₃ promotes fusion of mouse alveolar macrophages both by a direct mechanism and by a spleen cellmediated indirect mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA* 80: 5583-5587.
- ABE E., Shiina Y., Miyaura C., Tanaka H., Hayashi T., Kanegasaki S., Saito M., Nishii Y., De Luca H. F., Suda T. (1984): Activation and fusion induced by 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ and their relation in alveolar macrophages. *Proc Natl Acad Sci USA* 81: 7112-7116.
- ACKER G. M., Garabédian M., Guillozo H., Pecquinot M. A., Balsan S. (1982): In vitro formation of 25-hydroxyvitamin D₃ metabolites in endometrium: Dependence on the hormonal status of the rat. *Endocrinology* 111: 2103-2109.
- ADAMS J. S., Wahl T. O., Moore W. V., Horton W. A., Lukert B. P. (1979): Familialvitamin-D-dependent rickets: Further evidence for end organ resistance to active vitamin D metabolites. Program and Abstracts, 61st Annual Meeting of the Endocrine Society, p 767 (Abstract).
- ADAMS J. S., Gacad M. A., Singer, F. R. (1984): Specific internalization and action of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in cultured dermal fibroblast from patients with x-linked hypophosphatemia. *J Clin Endocrinol Metab* 59: 556-560.
- ALBRIGHT F., Butler A. M., Bloomberg E. (1937): Rickets resistant to vitamin D therapy. *Am J Dis Child* 54: 531-547.
- AL-HITI K., Thomas B. J., Al-Tikrity S. A., Ettinger E. V., Fremlin J. H. (1976): Spinal calcium: Its in vivo measurement in man. *Int J Appl Radiat Isot* 27: 97-108.
- ALLEN L. H. (1982): Calcium bioavailability and absorption: A review. *Am J Clin Nutr* 35: 783-808.
- ARLET P., Nicodeme R., Adoue D., Larregain-Fournier D., Delsol G., Le Tallec Y. (1984): Clinical evidence for 1,25-Hydroxycholecalciferol action in myelofibrosis. *Lancet* i: 1013-1014.
- ASH R. C., Detrick R. A., Zanjani E. D. (1981): Studies of human pluripotential stem cells (CFU-GEMM) in vitro. *Blood* 58: 309-316.

- AURBACH G. D., Marcus R., Heersche J. (1971): Hormones and other factors regulating calcium metabolism. *Ann N Y Acad Sci* 185: 386-394.
- BALSAN S., Garabédian M., Lieberherr M., Gueris J., Ulmann A. (1979): Serum 1,25-dihydroxyvitamin D concentrations in two different types of pseudodeficiency rickets. In: Norman A. W., Schaefer K., Herrath D. v., Grigoleit H. G., Coburn J. W., DeLuca H. F., Mawer E. B., Suda T. (Hrsg.) *Vitamin D basic research and its clinical application*. De Gruyter, Berlin: pp 1143-1149.
- BALSAN S., Garabédian M., Liberman U. A., Eil C., Bourdeau A., Guillozo H., Grimberg R., Le Deunff M. J., Lieberherr M., Guimbaud P., Broyer M., Marx S. J. (1983): Rickets and alopecia with resistance to 1,25-dihydroxyvitamin D: Two different clinical courses with two different cellular defects. *J Clin Endocrinol Metab* 57: 803-811.
- BALSAN S., Garabédian M., Larchet M., Gorski A. M., Cournot G., Tau, C. Bourdeau A., Silve C., Ricour C. (1986): Long-term nocturnal calcium infusions can cure rickets and promote normal mineralisation in hereditary resistance to 1,25-dihydroxyvitamin D. *J Clin Invest* 77: 1661-1667.
- BAR-SHAVIT Z., Noff D., Edelstein S., Meyer M., Shibolet S., Goldman R. (1981): 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ and the regulation of macrophage function. *Calcif Tissue Int* 33: 673-676.
- BAWDEN J. W., Deaton T. G., Crenshaw M. A. (1983): The effects of parathyroid hormone, calcitonin, and vitamin D metabolites on calcium transport in the secretory rat enamel organ. *J Dent Res* 62 (9): 952-955.
- BEER S., Tieder M., Kohelet D. Liberman U. A., Vure E., Bar-Joseph G., Gabizon D., Borochowitz V., Varon M., Modai D. (1981): Vitamin-D-resistant rickets with alopecia: A form of end organ resistance to 1,25-dihydroxyvitamin D. *Clin Endocrinol* 14: 395-402.
- BELL N. H., Shaw S., Turner R. T. (1984): Evidence that 1,25-dihydroxyvitamin D₃ inhibits the hepatic production of 25-hydroxyvitamin D in man. *J Clin Invest* 74: 1540-1544.
- BHALLA A. K., Amento E. P., Clemens T. L., Holick M. F., Krane S. M. (1983): Specific high-affinity receptors for 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in human peripheral blood mononuclear cells: Presence in monocytes and induction in T lymphocytes following activation. *J Clin Endocrinol Metab* 57: 1308-1310.

- BIANCHI M. L., Claris-Appiani A., Remeo L., Ulivieri F., Corghi E. (1985): Evolution of calcium-phosphate metabolism in childhood chronic renal failure. In: Norman A. W., Schaefer K., Grigoleit H. G., Herrath D. v. (Hrsg.) Vitamin D. Chemical, biochemical and clinical update. De Gruyter, Berlin: pp 1149-1150.
- BIRGE S. J., Haddad J. G. (1975): 25-Hydroxycholecalciferol stimulation of muscle metabolism. J Clin Invest 56: 1100-1107.
- BJORKHEM I., Hansson R., Holmberg I., Wikvell K. (1979): 25-Hydroxylation of vitamin D₃ by a reconstituted system from rat liver microsomes. Biochem Biophys Res Commun 90: 615-622.
- BJORKHEM I., Holmberg I., Oftebro H., Pedersen J. L. (1980): Properties of a reconstituted vitamin D₃ 25-hydroxylase system from rat liver mitochondria. J Biol Chem 255: 5244-5249.
- BOUILLON R., Van Baelen H., Rombauts W., DeMoor P. (1976): The purification and characterisation of the human-serum binding protein for 25-hydroxycholecalciferol (Transcalciferin): Identity with group-specific component. Eur J Biochem 66: 285-291.
- BROADUS A. E. (1981): Mineral metabolism. In: Felig P., Baxter J. D., Broadus A. E., Frohman L. A. (Hrsg.) Endocrinology and metabolism. McGraw-Hill, New York: pp 963-1079.
- BROOKS M. H., Bell N. H., Love L., Stern P. H., Orfei E., Queener S. F., Hamstra A. J., DeLuca H. F. (1978): Vitamin-D-dependent rickets type II: Resistance of target organs to 1,25-dihydroxyvitamin D. N Eng J Med 298: 996-999.
- BROOKS M. H., Stern P. H., Bell N. H. (1980): Vitamin D-dependent rickets type II (Letter to the editor). N Eng J Med 302: 810.
- BURKHARDT H., Weppler R., Rommel K. (1976): Indikation zur Hydroxyprolinbestimmung im Urin. Dtsch Med Wschr 101: 1394-1398.
- CASTELLS S., Greig F., Fusi M. A., Finberg L., Yasumura S., Liberman U. A., Eil C., Marx S. J. (1984): Vitamin D dependent rickets type II with alopecia: treatment with mega doses of 1,25(OH)₂D₃ overcomes affinity defect in receptor for 1,25(OH)₂D. Pediat Res 18 II: 291 A (Nr. 1174).

- CASTELLS S., Fusi M. A., Finberg L., Greig F., Yasumura S., Liberman U. A., Marx S. J. (1985): Manifestations of 1,25-hydroxyvitamin D receptors with abnormally low hormone affinity: Comparison of two kindreds. *Pediat Res* 19 II: 310 A (Nr. 1200).
- CASTELLS S., Greig F., Fusi M. A., Finberg L., Yasumura S., Liberman U. A., Eil C., Marx S. J. (1986): Severely deficient binding of 1,25-dihydroxyvitamin D to its receptor in a patient responsive to high doses of this hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 63: 252-256.
- CAVAROC M., de Lagullaumie B., Malpeuch G., Raynaud E. J. (1970): Substratum anatomique de l'anémie du rachisme. *Ann Anat Pathol* (Paris) 15: 265-271.
- CHEN T. L., Hirst M. A., Feldman D. A. (1979): A receptor-like binding macromolecule for 1,25-dihydroxycholecalciferol in cultured mouse bone cells. *J Biol Chem* 254: 749-756.
- CHEN T. L., Hirst M. A., Cone C. M., Hochberg Z., Tietze H.-U., Feldman D. (1984): 1,25-Dihydroxyvitamin D resistance, rickets, and alopecia: Analysis of receptors and bioresponse in cultured fibroblasts from patients and parents. *J Clin Endocrinol Metab* 59: 383-388.
- CHRISTIANSEN C., Rödbro P. (1977): Long term reproducibility of bone mineral content measurements. *Scan J Clin Lab Invest* 37: 321-327.
- CLEMENS T. L., Adams J. A., Henderson S. L., Holick M. F. (1982): Increased skin pigment reduces the capacity of skin to synthesize vitamin D₃. *Lancet* i: 74-76.
- CLEMENS T. L., Adams J. S., Horiuchi N., Gilchrest B. A., Cho H., Tsuchiya Y., Matsuo N., Suda T., Holick M. F. (1983): Interaction of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ with keratinocytes and fibroblasts from skin of normal subjects and a subject with vitamin-D-dependent rickets, type II: A model for study of the mode of action of 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *J Clin Endocrinol Metab* 56: 824-830.
- CLOIX J. L., d'Herbigny E., Ulmann A. (1980): Renal parathyroid hormone-dependent adenylate cyclase in vitamin D-deficient rats: inhibition by hydroxylated vitamin D₃ metabolites. *J Biol Chem* 255: 11280-11283.
- COHEN S., Pick E., Oppenheim J. J. (1979): *Biology of the Lymphokine*. Academic Press, New York.
- COHN S. H., Dombrowski C. S., Fairchild R. G. (1970): In vivo neutron activation analysis of calcium in man. *Int J Appl Radiat Isot* 21: 127-133.

- COOPERBERG A. A., Singer O. P. (1966): Reversible myelofibrosis due to vitamin D deficiency rickets. *Canad Med Ass J* 94: 392-395.
- CORVOL M., Ulmann A., Garabédian M. (1980): Specific nuclear uptake of 24,25-dihydroxycholecalciferol, a vitamin D₃ metabolite biologically active in cartilage. *FEBS Lett* 116: 273-276.
- DALEN N., Lamke B. (1974). Grading of osteoporosis by skeletal roentgenology and bone scanning. *Acta Radiol (Stockholm)* 15: 177-185.
- DeLUCA H. F., Schnoes H. K. (1983): Vitamin D: Recent advances. *Annu Rev Biochem* 52: 411-439.
- DENT C. E., Friedman M., Watson L. (1968): Hereditary pseudo-vitamin D deficiency rickets (Hereditäre Pseudo-Mangelrachitis): *J Bone Joint Surg (Br.)* 50: 708-717.
- EIL C. Liberman U. A., Rosen J. F., Marx S. J. (1981): A cellular defect in hereditary vitamin-D-dependent rickets type II: Defective nuclear uptake of 1,25-dihydroxyvitamin D in cultured skin fibroblasts. *N Eng J Med* 304: 1588-1591.
- FAUSER A. A., Messner H. A. (1978): Granuloerythropoietic colonies in human bone marrow, peripheral blood, and cord blood. *Blood* 52: 1243-1249.
- FELDMAN D., Chen T., Cone C., Hirst M., Shani S., Benderli A., Hochberg Z. (1982): Vitamin D resistant rickets with alopecia: Cultured skin fibroblasts exhibit defective cytoplasmic receptors and unresponsiveness to 1,25(OH)₂D₃. *J Clin Endocrinol* 55: 1020-1022.
- FLOREN T., Römer C., Werner E., Wilhelm G. (in Vorbereitung): Bestimmung des internen Kalziumumsatzes und der intestinalen Kalziumabsorption mit stabilen Kalziumisotopen. I. Durchführung und Bestimmung von Referenzwerten bei Kindern und Erwachsenen.
- FONTAINE O., Matsumoto T., Goodman D. B. P., Rasmussen H. (1981): Liponomic control of Ca⁺⁺ transport: Relationship to mechanism of action of 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Proc Natl Sci USA* 78: 1751-1754.
- FRAHER L. J., Hendy G. N., Yani H., Nicholson L., Hinde F. R. J., Grant D., O'Riordan J. L. H. (1984): Interactions of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ with cultured skin fibroblasts: Reduced metabolism of 1,25-dihydroxyvitamin D, in a patient with vitamin D dependent rickets type II. In: *Endocrine Control of Bone and Calcium Metabolism*. Cohn D. V., Fujita T., Potts J. T. jr., Talmage R. V. (Hrsg.) Elsevier pp 46-50.

- FRASER D. R. (1980): Regulation of the metabolism of vitamin D. *Physiol Rev* 60: 551-613.
- FRIEDLANDER E. J., Henry H., Norman A. W. (1977): Studies on the mode of action of calciferol. XII. Effects of dietary calcium and phosphorus on the relationship between the 25-hydroxyvitamin D₃-1-hydroxylase and production of chick intestinal calcium binding protein. *J Biol Chem* 252: 8677-8681.
- FUJITA T., Nomura M., Okajima S., Furuya H. (1980): Adult-onset vitamin D-resistant osteomalacia with the unresponsiveness to parathyroid hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 50: 927-931.
- GAMBLIN G. T., Liberman U. A., Eil C., Downs R. W. jr., De Grange D. A., Marx S. J. (1985): Vitamin D dependent rickets type II: Defective induction of 25-hydroxyvitamin D₃-24-hydroxylase by 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in cultured skin fibroblasts. *J Clin Invest* 75: 954-960.
- GARABÉDIAN M., Bailly du Bois M., Corvol M. T., Pezant E., Balsan S. (1978): Vitamin D and cartilage. I. In vitro metabolism of 25-hydroxycholecalciferol by cartilage. *Endocrinology* 102: 1262-1268.
- GEARING A. J. H., Johnstone A. P., Thorpe R. (1985): Production and assay of the interleukins. *J Immunol Methods* 83: 1-27.
- GRAY T. K., Maddox F. W., Mentz W. M., Williams M. E. (1982): Studies of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ synthesis in vitro by macrophages. *Clin Res* 30: 524 A.
- GREIG F., Casas J., Castells S. (1986): Plasma osteocalcin before and during treatment of various forms of rickets. *Pediat Res* 20 II: 329 A (Nr. 1013).
- GRIFFIN J. E., Zerwekh J. E (1983): Impaired stimulation of 25-hydroxyvitamin D-24-hydroxylase in fibroblasts from a patient with vitamin D-dependent rickets, type II. *J Clin Invest* 72: 1190-1199.
- GUNDBERG C. M., Cole D. E. C., Lian J. B., Reade T. M., Gallop P. M. (1983): Serum osteocalcin in the treatment of inherited rickets with 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *J Clin Endocrinol Metab* 56: 1063-1067.
- HAAS R. J. (1978): Die Entwicklung der Knochenmarkhämatopoese. In: Queiser W., (Hrsg.). *Das Knochenmark - Morphologie, Funktion, Diagnose*. Thieme, Stuttgart: pp 70-77.
- HANSEN J. W., Gordon G. S., Prussin S. G. (1973): Direct measurement of osteolysis in man. *J Clin Invest* 52: 304-315.

- HARRIS F., Hoffenberg R., Black E. (1965): Calcium kinetics in vitamin D deficiency rickets II. Intestinal handling of calcium. *Metabolism* 14: 1112-1121.
- HAUSSLER M. R., Donaldson C. A., Kelly M. A., Mangelsdorf D. J., Marion S. L., Pike J. W. (1985): Functions and mechanisms of action of the 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptor. In: Norman A. W., Schaefer K., Grigoleit H. G., Herrath D. v., (Hrsg.) *Vitamin D. Chemical, biochemical and clinical update*. De Gruyter, Berlin: pp 83-92.
- HAYEM G. (1889): Note sur l'anémie des nourissons. *Gazette Hebdomadaire de Médecine et de Chirurgie* 45: 726-729.
- HIRST M. A., Hochman H. I., Feldman D. (1985): Vitamin D resistance and alopecia: A kindred with normal 1,25-dihydroxyvitamin D₃ binding, but decreased receptor affinity for deoxyribonucleic acid. *J Clin Endocrinol Metab* 60: 490-495.
- HOCHBERG Z., Benderli A., Levy J., Vardi P., Weisman Y., Chen T., Feldman D. (1984): 1,25-dihydroxyvitamin D resistance, rickets, and alopecia. *Am J Med* 77: 805-811.
- HOCHBERG Z., Borochowitz Z., Benderli A., Vardi P., Oren S., Spier Z., Heyman I., Weisman Y. (1985a): Does 1,25-dihydroxyvitamin D participate in the regulation of hormone release from endocrine glands? *J Clin Endocrinol Metab* 60: 57-61.
- HOCHBERG Z., Gilhar A., Haim S., Friedman-Birnbaum R., Levy J., and Benderli A. (1985b): Calcitriol-resistant rickets with alopecia. *Arch Dermatol* 121: 646-647.
- HOLICK M. F., Adams J. S., Clemens T. L., MacLaughlin J., Horiuchi N., Smith E., Holick S. A., Nolan J., Hanaifan N. (1982): Photoendocrinology of vitamin D: The past, present and future. In: Norman A. W., Schaefer K., Herrath D. v., Grigoleit H. G. (Hrsg.) *Vitamin D. Chemical, biochemical and clinical endocrinology of calcium metabolism*. De Gruyter, Berlin: pp 1151-1156.
- HOLICK M. F. (1985): Vitamin D photobiology: Recent advances in the biochemistry and some clinical applications. In: Norman A. W., Schaefer K., Grigoleit H. G., Herrath D. v., (Hrsg.) *Vitamin D. Chemical, biochemical and clinical update*. De Gruyter, Berlin: pp 219-228.
- HORST R. L. (1979): 25-OHD₃-26,23-lactone: a metabolite of vitamin D₃ that is 5 times more potent than 25-OHD₃ in the rat plasma competitive binding radioassay. *Biochem Biophys Res Commun* 89: 286-293.
- HOWARD G. A., Turner R. T., Sherrard D. J., Baylink D. J. (1981): Human bone cells in culture metabolise 25(OH)D₃ to 1,25(OH)₂D₃ and 24,25(OH)₂D₃. *J Biol Chem* 256: 7738-7743.

- HULDSCHINSKY K. (1919): Heilung von Rachitis durch künstliche Höhensonne. Dtsch Med Wschr 45: 712-713.
- IHLE J. N., Keller J., Oroszlan S. Henderson L. E., Copeland T. E., Fitch F., Prystowky M. B., Goldwasser E., Schrader J. W., Palaszynski E., Dy M., Lebel B. (1983): Biologic properties of homogenous interleukin 3. J Immunol 131: 282-287.
- JAKSCH R. v. (1889): Ueber Leukämie und Leukocytose im Kindesalter. Wiener Klinische Wochenschrift 22: 435-437 und 23: 456-458.
- JAPHA A. (1910): Die Säuglingsanämie mit Einschluß der sogenannten "Anaemia pseudoleucaemica" infantum. In: Pfaundler M., Schlossmann A. (Hrsg.) Handbuch der Kinderheilkunde. Vogel, Berlin: 2. Auflage, 2. Band, pp 11-18.
- KANIS J. A. (1982): Vitamin D metabolism and its clinical application. J Bone Joint Surg 64 B: 542-560.
- KAWASHIMA H., Torikai S., Kurokawa K. (1981): Calcitonin selectively stimulates 25-hydroxyvitamin D₃-1 α -hydroxylase in proximal straight tubule of rat kidney. Nature (London) 291: 327-329.
- KAWASHIMA H., Kraut J. A., Kurokawa K. (1982): Metabolic acidosis suppresses 25-hydroxyvitamin D₃-1 α -hydroxylase in the rat kidney. J Clin Invest 70: 135-140.
- KELLER W., Wiskott A. (1984): Lehrbuch der Kinderheilkunde. Betke K., Künzer W. (hrsg.) Thieme, Stuttgart.
- KIM Y. S., Stumpf W. E., Clark S. A., Sar M., DeLuca H. F. (1983): Target cells for 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in developing rat incisor teeth. J Dent Res 62 (1): 58-59.
- KOREN R., Ravid A., Hochberg Z., Weisman Y., Novogrodsky A., Liberman U. A. (1985): Defective binding and function of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptors in peripheral mononuclear cells of patients with end organ resistance to 1,25(OH)₂D. In: Norman A. W., Schaefer K., Grigoleit H. G., Herrath D. v., (Hrsg.) Vitamin D. Chemical, biochemical and clinical update. De Gruyter, Berlin: pp 147-148.
- KRØLNER B., Pors Nielsen S. (1980): Measurement of bone mineral content (BMC) of the lumbar spine. I. Theory and application of a new two-dimensional dualphoton attenuation method. Scan J Clin Lab Invest 40: 653-663.
- KRUSE K. (1985): Hereditäre Störungen des Vitamin-D-Stoffwechsels. Ergebnisse der Inneren Medizin und Kinderheilkunde 54: 108-154.
- KRUSE K., Kracht U. (1986): Evaluation of serum osteocalcin as an index of altered bone metabolism. Eur J Pediatr 145: 27-33.

- KUDOH T., Kumagai T., Uetsuji N., Tsugawa S., Oyanagi K., Chiba Y., Minami R., Nakao T. (1981): Vitamin D dependent rickets: Decreased sensitivity to 1,25-dihydroxyvitamin D. *Eur J Pediatr* 137: 307-311.
- KUMAR R., Schnoes H. K., DeLuca H. F. (1978): Rat intestinal 25-hydroxyvitamin D₃- and 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃-24-hydroxylase. *J Biol Chem* 253: 3804-3809.
- LAMBERT P. W., Stern P. H., Avioli R. C., Brackett N. C., Turner R. T., Greene A., Fui Y., Bell N. H. (1982): Evidence for extrarenal production of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D in man. *J Clin Invest* 69: 722-725.
- LEMANN J. jr., Gray R. W. (1984): Calcitriol, calcium and granulomatous disease. *N Engl J Med* 311: 1115-1117.
- LIBERMAN U. A., Sperling O., Atsmon A., Frank M., Modan M., DeVries A. (1968): Metabolic and calcium kinetic studies in idiopathic hypercalcuria. *J Clin Invest* 47: 2580-2590.
- LIBERMAN U. A., Samuel R., Halabe A., Kauli R., Edelstein S., Weisman Y., Papapoulos S. E., Clemens T. L., Fraher L. J., O'Riordan J. L. H. (1980): End-organ resistance to 1,25-dihydroxycholecalciferol. *Lancet* i: 504-507.
- LIBERMAN U. A., Eil C., Marx S. J. (1983): Resistance to 1,25(OH)₂D: Association with heterogeneous defects in cultured skin fibroblasts. *J Clin Invest* 71: 192-200.
- LISSNER J., Hug O. (1980): Radiologie I. Enke, Stuttgart: p 70.
- LORENTE F., Fontan G., Jara P., Casas C., Garcia-Rodriguez M. C., Ojeda J. A. (1976): Defective neutrophil motility in hypovitaminosis D rickets. *Acta Paediatr Scand* 65: 695-699.
- MANOLAGAS S. C. (1985): Role of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in the immune system. In: Norman A. W., Schaefer K., Grigoleit H. G., Herrath D. v., (Hrsg.) Vitamin D. Chemical, biochemical and clinical update. De Gruyter, Berlin: pp 199-208.
- MARX S. J., Spiegel A. M., Brown E. M., Gardner D. G., Downs R. W. jr., Attie M., Hamstra A. J., DeLuca H. F. (1978): A familial syndrome of decrease in sensitivity to 1,25-dihydroxyvitamin D. *J Clin Endocrinol Metab* 47: 1303-1310.
- MARX S. J., Swart E. G. jr., Hamstra A. J., DeLuca H. F. (1980): Normal intrauterine development of the fetus of a woman receiving extraordinarily high doses of 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *J Clin Endocrinol Metab* 51: 1138-1142.
- MARX S. J., Liberman U. A., Eil C. (1983): Calciferol actions and deficiencies in actions. *Vitam Horm* 40: 235-308.

- MARX S. J. (1984): Resistance to vitamin D. In: Kumar R. (Hrsg.) Vitamin D metabolism: Basic and clinical aspects. Nijhoff, The Hague: pp 721-745.
- MARX S. J., Liberman U. A., Eil C., Gamblin G. T., DeGrange D. A., Balsan S. (1984): Hereditary resistance to 1,25-dihydroxyvitamin D. Recent Prog Horm Res 40: 589-620.
- MARX S. J., Liberman U. A., Eil C., DeGrange D. A., Bliziotis M. M. (1985): Resistance to 1,25-dihydroxycholecalciferol in man and other species. In: Norman A. W., Schaefer K., Grigoleit H. G., Herrath D. v., (Hrsg.) Vitamin D. Chemical, biochemical and clinical update. De Gruyter, Berlin: pp 107-116.
- MARX S. J., Bliziotis M. M., Nanes M. (im Druck): Alopecia and resistance to 1,25(OH)₂D. J Clin Endocrinol Metab.
- MASON R. S. (1985): Extra-renal production of 1,25(OH)₂D₃: The metabolism of vitamin D by non-traditional tissues. In: Norman A. W., Schaefer K., Grigoleit H. G., Herrath D. v., (Hrsg.) Vitamin D. Chemical, biochemical and clinical update. De Gruyter, Berlin: pp 23-32.
- MCCARTHY D. M., Hibbin J. A., Goldman J. M. (1984a): A role for 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in control of bone-marrow collagen deposition? Lancet i: 78-80.
- MCCARTHY D., Hibbin J., Matutes E., Daniel P., Catovsky D., Goldman J. M. (1984b): 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and myelofibrosis. Lancet i: 1298.
- MERKE J., Ritz E., Schettler G. (1986): Neuere Gesichtspunkte zur Rolle von Vitamin D. Gegenwärtiger Wissensstand und Perspektiven. Dtsch Med Wschr 111: 345-349.
- MIYAURA C., Abe E., Kuribayashi T., Tanaka H., Konno K., Nishii Y., Suda T. (1981): 1α,25-dihydroxyvitamin D₃ induces differentiation of human myeloid leukemia cells. Biochem Biophys Res Commun 102: 937-943.
- MOORE L. J., Machlan L. A., Lim M. O., Yergey A. L., Hansen J. W. (1985): Dynamics of calcium metabolism in infancy and childhood. I. Methodology and quantification in the infant. Pediatr Res 19: 329-334.
- MURER H., Hildmann B. (1981): Transcellular transport of calcium and inorganic phosphate in the small intestine epithelium. Am J Physiol 240: G409-G416.
- NAPOLI J. L., Horst R. L. (1985): Metabolism of 1,25-dihydroxyergocalciferol: relation to the biological differences between ergocalciferol and cholecalciferol. In: Norman A. W., Schaefer K., Grigoleit H. G., Herrath D. v., (Hrsg.) Vitamin D. Chemical, biochemical and clinical update. De Gruyter, Berlin: pp 69-70.

- NICOLA N. A., Vadas M. (1984): Haemopoietic colony-stimulating factors. *Immunol Today* 5: 76-80.
- NORMAN A. W., Roth J. Orci L. (1982): The vitamin D endocrine system: Steroid metabolism, hormone receptors, and biological response (calcium binding proteins). *Endocr Rev* 3: 331-366.
- OMDAHL J. L., Hunsaker L. A., Evan A. P., Torrez P. (1980): In vitro regulation of kidney 25-hydroxyvitamin D₃-hydroxylase activity by vitamin D₃ metabolites. *J Biol Chem* 255: 7460-7466.
- ONISKO B. L., Esvelt R., Schnoes H. K., DeLuca H. F. (1980a): Excretion of metabolites of 1a,25-dihydroxyvitamin D₃ in rat bile. *Arch Biochem Biophys* 205: 175-179.
- ONISKO B. L., Esvelt R., Schnoes H. K., DeLuca H. F. (1980b): Metabolites of 1a,25-dihydroxyvitamin D₃ in rat bile. *Biochemistry* 19: 4124-4130.
- PIKE J. W., Dokoh S., Haussler M. R., Liberman U. A., Marx S. J., Eil C. (1984): Vitamin D₃-resistant fibroblasts have immunoassayable 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptors. *Science* 224: 879-881.
- PIKE J. W. (1985): New insights into mediators of vitamin D₃ action. In: Norman A. W., Schaefer K., Grigoleit H. G., Herrath D. v., (Hrsg.) *Vitamin D. Chemical, biochemical and clinical update*. De Gruyter, Berlin: pp 97-106.
- POSER J. W., Esch F. S., Ling H. C., Price P. A. (1980): Isolation and sequence of the vitamin K-dependent protein from human bone. Undercarboxylation of the first glutamic acid residue. *J Biol Chem* 255: 8685-8691.
- PRADER V. A., Illig R., Heidi E. (1961): Eine besondere Form der primären Vitamin D-resistenten Rachitis mit Hypocalcämie und autosomal-dominantem Erbgang: Die hereditäre Pseudomangelrachitis. *Helv Paed Acta* 5/6: 452-468.
- PRICE P. A., Otsuka A. S., Poser J. W., Kritaponis J., Raman N. (1976): Characterisation of a gamma-carboxyglutamic acid-containing protein from bone. *Proc Natl Sci USA* 73: 1447-1451.
- PRICE P. A., Parthemore J. G., Deftos L. J. (1980): New biochemical marker of bone metabolism. Measurement by radioimmunoassay of bone Gla protein in the plasma of normal subjects and patients with bone disease. *J Clin Invest* 66: 878-883.
- PRICE P. A., Williamson M. K., Lothringer J. W. (1981): Origin of the vitamin K-dependent bone protein found in plasma and its clearance by kidney and bone. *J Biol Chem* 256: 12760-12766.

- PRICE P. A. (1984): The effect of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on the vitamin K-dependent protein of bone. In: Kumar R. (Hrsg.) Vitamin D metabolism: basic and clinical aspects. Nijhof, The Hague: pp 397-410.
- PROVEDINI D. M., Tsoukas C. D., Deftos L. J., Manolagas S. C. (1983): 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptors in human leucocytes. *Science* 221: 1181-1183.
- PROVEDINI D. M., Tsoukas C. D., Deftos L. J., Manolagas S. C. (1985): Temporal relationship of 1,25-dihydroxycholecalciferol receptor expression and effects on activated lymphocytes. In: Norman A. W., Schaefer K., Grigoleit H. G., Herrath D. v., (Hrsg.) Vitamin D. Chemical, biochemical and clinical up date. De Gruyter, Berlin: pp 133-134.
- RAY J. (1977): Corrélation entre la quantité de calcium ingérée et la quantité de lipides trouvée dans les selles. In: Durieux P. (Hrsg.) Encyclopédie Médico-Chirurgicale. Pédiatrie. Edition Techniques, Paris: 4008 A30-2, p 42.
- REICHEL H., Koeffler H. P., Barbers R., Munker R., Norman A. W. (1985): 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and the hematopoietic system. In: Norman A. W., Schaefer K., Grigoleit H. G., Herrath D. v. (Hrsg.) Vitamin D. Chemical, biochemical and clinical update. Berlin, Walter de Gruyter: pp 167-176.
- REUSNER H. (1582): Decisiones praecipuorum aliquot de quibus, ad probande Amplissimo Medicorum Basileensium ordine, pro consequenda Asclepiadea Laurea Basilea Rauricorum.
- RIGBY W. F. C., Shen L. Ball E. D., Guyre P. M., Fanger M. W. (1984a): Differentiation of a human monocytic cell line by 1,25-dihydroxyvitamin D₃ (calcitriol): a morphologic, phenotypic, and functional analysis. *Blood* 64: 1110-1115.
- RIGBY W. F. C., Stacy T., Fanger M. W. (1984b): Inhibition of T lymphocyte mitogenesis by 1,25-dihydroxyvitamin D₃ (calcitriol). *J Clin Invest* 74: 1451-1455.
- RIGGS B. L., Wahner H. W., Dunn W. L., Mazess R. B., Offord K. P., Melton III L. J. (1981): Differential changes in bone mineral density of the appendicular and axial skeleton with aging. Relationship to spinal osteoporosis. *J Clin Invest* 67: 328-335.
- ROSEN J. F., Fleischman A. R., Finberg L., Hamstra A., DeLuca H. F. (1979): Rickets with alopecia: An inborn error of vitamin D metabolism. *J Pediatr* 94: 729-735.
- ROSENWASSER L. J., Dinarello C. A. (1981): Ability of human leucocytic pyrogen to enhance phytohemagglutinin induced murine tymocyte proliferation. *Cell Immunol* 63: 134-142.

- RUBINGER D., Cojacaru T., Popovtzer M. M. (1985): 24,25(OH)₂D₃ attenuates the effect of 1,25(OH)₂D₃ in rats with reduced renal mass. In: Norman A. W., Schaefer K., Grigoleit H. G., Herrath D. v., (Hrsg.) Vitamin D. Chemical, biochemical and clinical update. De Gruyter, Berlin: pp 282-283.
- SCATCHARD G. (1949): The attraction of proteins for small molecules and ions. Ann NY Acad Sci 51: 660-672.
- SILVER, J., Landau H. Bab I., Shvil Y., Friedlaender M. M., Rubinger D., Popovtzer M. M. (1985): Vitamin D-dependent rickets types I and II. Diagnosis and response to treatment. Isr J Med Sci 21: 53-56.
- SKJODT H., Beresford J. N., Wood D. D., Russel R. G. G. (1985): Interleukin 1 and cyclosporin A modulate actions of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on bone in vitro. In: Norman A. W., Schaefer K., Grigoleit H. G., Herrath D. v., (Hrsg.) Vitamin D. Chemical, biochemical and clinical update. De Gruyter, Berlin: pp 491-492.
- SMITH K. A. (1980): T-cell growth factor. Immunol Rev 51: 337-357.
- SMITH K. A., Lachman L. B., Oppenheim J. J., Favata M. F. (1980): The functional relationship of interleukins. J Exp Med 151: 1551-1556.
- SOCKALOSKY J. J., Ulstrom R. A., DeLuca H. F., Brown D. M. (1980): Vitamin D-resistant rickets: End-organ unresponsiveness to 1,25(OH)₂D₃. J Pediatr 96: 701-703.
- SOMJEN D., Somjen G. J., Weisman Y., Binderman I (1982): Evidence for 24,25-dihydroxycholecalciferol receptors in long bones of newborn rats. Biochem J 204: 31-36.
- SOMJEN D., Weisman Y., Berger E., Fine N., Kaye A. M., Binderman I (1985): A comparison of the responses to 24R,25(OH)₂D₃ and 1,25(OH)₂D₃ by developing skeletal tissue. In: Norman A. W., Schaefer K., Grigoleit H. G., Herrath D. v., (Hrsg.) Vitamin D. Chemical, biochemical and clinical update. De Gruyter, Berlin: pp 284-293.
- STALDER G., Schmid R., Held U., Rossier R. (1962): Serumchemische und radiologische Besserung der Mangelrachitis unter Vitamin D-Behandlung trotz calciumfreier Ernährung. Ann paediat 199: 215-225.
- STRÖDER J., Kasal P. (1970): Evaluation of phagocytosis in rickets. Acta Paediat Scand 59: 288-292.
- STRÖDER J. (1973): Infektabwehr bei Rachitis. Mschr Kinderheilk 121: 354-359.

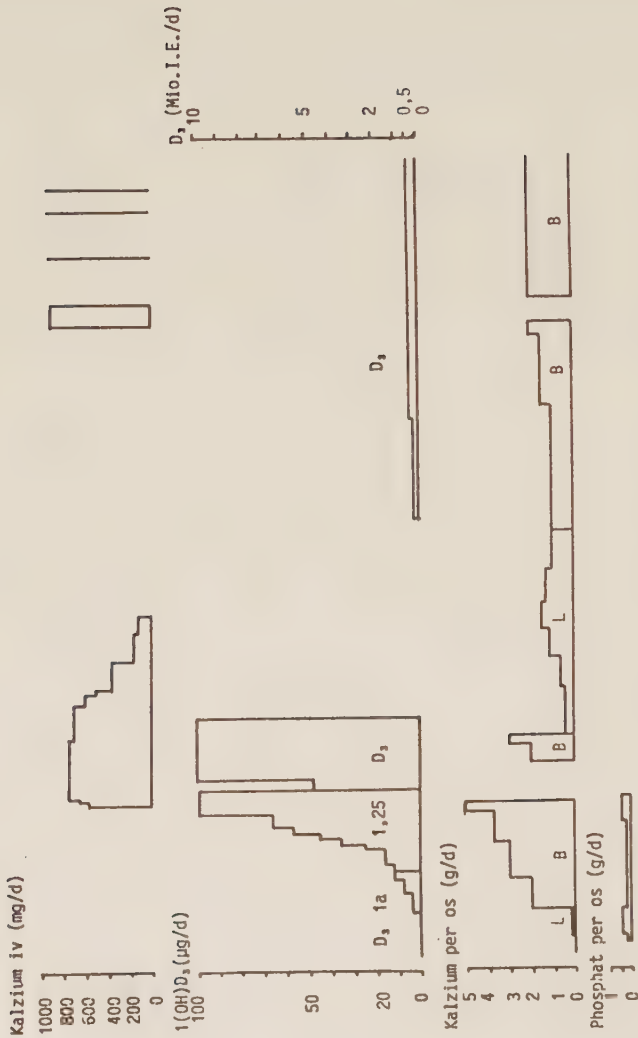
- STRÖDER J. (1975): Immunity in vitamin D-deficient rickets. In: Norman A. W., Schaefer K., Grigoleit H. G., Herrath D. v., (Hrsg.) Vitamin D and problems related to uremic bone disease. De Gruyter, Berlin: pp 675-687.
- STUMPF W. E., Sar M., Reid F. A., Tanaka Y., DeLuca H. F. (1979): Target cells for 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in intestinal tract, stomach, kidney, skin, pituitary, and parathyroid. *Schience* 206: 1188-1190.
- STUMPF W. E., Sar M., DeLuca H. F. (1981): Sites of action of 1,25(OH)₂ vitamin D₃ identified by thaw-mount autoradiography. In: Cohn D. V., Talmage R. V., Matthews J. L. jr. (Hrsg.) Hormonal control of calcium metabolism. *Excerpta Medica*, Amsterdam: pp 222-229.
- STUMPF W. E., Clark S. A., Kim Y. S. DeLuca H. F. (1985): Comparison of cellular and subcellular distribution of vitamin D metabolites (1,25(OH)₂ vitamin D₃, 24,25(OH)₂ vitamin D₃, 25(OH)vitamin D₃) in target tissues. In: Norman A. W., Schaefer K., Grigoleit H. G., Herrath D. v., (Hrsg.) Vitamin D. Chemical, biochemical and clinical update. De Gruyter, Berlin: pp 119-120.
- TANAKA Y., DeLuca H. F. (1973): The control of 25-hydroxyvitamin D metabolism by inorganic phosphorus. *Arch Biochem Biophys* 154: 566-574.
- TANAKA Y., Lorenc R. S., DeLuca H. F. (1975): The role of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and parathyroid hormone in the regulation of chick renal 25-hydroxyvitamin D₃-24-hydroxylase. *Arch Biochem Biophys* 171: 521-526.
- TANAKA Y., Castillo L., Wineland M. J., DeLuca H. F. (1978): Synergistic effect of progesterone, testosterone, and estradiol in the stimulation of chick renal 25-hydroxyvitamin D₃-1α-hydroxylase. *Endocrinology* 103: 2035-2039.
- TAYLOR C. M., Mawer E. B., Wallace J. E., St. John J., Cochran M., Russel R. G. G., Kanis J. A. (1978): The absence of 24,25-dihydroxycholecalciferol in anephric patients. *Clin Sci Mol Med* 55: 541-547.
- TEITELBAUM S. L., Bar-Shavit Z., Reitsma P. H., Welgus H. G., Kahn A. J. (1985): Vitamin D and macrophage differentiation. In: Norman A. W., Schaefer K., Grigoleit H. G., Herrath D. v., (Hrsg.) Vitamin D. Chemical, biochemical and clinical update. De Gruyter, Berlin: pp 177-182.
- TIETZE H. U., Burgert A., Schaaff A., Hennes U. (1981): Familial rickets with alopecia: Inborn end organ resistance to 1,25-(OH)₂D₃. *Acta Endocrinol (Copenhagen)* 96 (Suppl 240): 35-36.
- TRECHSEL U., Eisman J. A., Fischer J. A., Bonjour J. P., Fleisch H. (1980): Calcium-dependent, parathyroid hormone-independent regulation of 1,25-dihydroxyvitamin D. *Am J Physiol* 239: E119-E124.

- TRECHSEL U., Evequoz V., Hodler B., Fleisch H. (1985): Similarity of effects of $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ and retinoic acid on interleukin 1, 2, and 3 production. In: Norman A. W., Schaefer K., Grigoleit H. G., Herrath D. v., (Hrsg.) Vitamin D. Chemical, biochemical and clinical update. De Gruyter, Berlin: pp 183-184.
- TSOUKAS C. D., Provvedini D. M., Manolagas S. C. (1984): $1,25$ -dihydroxyvitamin D_3 : A novel immunoregulatory hormone. Science 224: 1438-1440.
- TSUCHIYA Y., Matsuo N., Cho H., Kumagai M., Yasaka T., Suda T., Orimo H., Shimaki M. (1980): An unusual form of vitamin D-dependent rickets in a child: Alopecia and marked end-organ hyposensitivity to biologically active vitamin D. J Clin Endocrinol Metab 51: 685-690.
- UHLIG R. (1981): Familiäre Pseudovitamin D-Mangelrachitis mit Alopezie als Folge von hochgradiger Endorganresistenz gegen $1,25$ -(OH) $_2$ -Cholecalciferol: Therapierbarkeit einer weiteren Vitamin D_3 -Stoffwechselstörung. Monatsschr Kinderheilkd 129: 420-422.
- ULMANN A., Bami M., Dumontier M. F., Bourguignon J., Tsagris L., Corvol M. T. (1985): Biological activity and cellular binding of $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ and $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in cultured growth plate rabbit chondrocytes in a dividing and a stationary phase. In: Norman A. W., Schaefer K., Grigoleit H. G., Herrath D. v., (Hrsg.) Vitamin D. Chemical, biochemical and clinical update. De Gruyter, Berlin: pp 275-281.
- UNDERWOOD J. L., DeLuca H. F. (1984): Vitamin D is not directly necessary for bone growth and mineralisation. Am J. Physiol 246: E493-E498.
- WALD H., Hayek T., Popovtzer M. M. (1985): $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ enhances the calcemic effect of $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$: Evidence for hypocalcemic action of $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. In: Norman A. W., Schaefer K., Grigoleit H. G., Herrath D. v., (Hrsg.) Vitamin D. Chemical, biochemical and clinical update. De Gruyter, Berlin: pp 312-313.
- WALKA M. M., Däumling S., Kruse K., Belohradsky B. H., Schneider K., Haas R. J., Hadorn H. B. (1985): Vitamin D-abhängige Rachitis Typ II (DAR II) ohne Alopezie mit extramedullärer Blutbildung und Immundefizienz. Monatsschr Kinderheilkd 133: 620 (Nr. 333).
- WALKA M. M., Däumling S., Belohradsky B. H., Haas R. J., Hadorn H. B., Kruse K., Marx S. J. (in Vorbereitung). Vitamin D dependent rickets type II associated with an entrophil chemotaxis defect and extramedullary hematopoiesis.

- WALTERS M. R., Rosen D. M., Norman A. W., Luben R. A. (1982): 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptors in an established bone cell line: correlation with biochemical responses. *J Biol Chem* 257: 7481-7487.
- WECKSLER W. R., Norman A. W. (1979): An hydroxylapatite batch assay for the quantitation of 1-alpha, 25-dihydroxyvitamin D₃ receptor complexes. *Anal Biochem* 92: 314-323.
- WEINMANN J. P. (1983): Bone change related to eruption of teeth. *Angle Orthod* 11: 1-41.
- WEINSTEIN R. S., Underwood J. L., Hutson M. S., DeLuca H. F. (1984): Bone histomorphometry in vitamin D-deficient rats infused with calcium and phosphorus. *Am J Physiol* 246: E499-E505.
- WEISMAN Y., Vargas A., Duckett G., Reiter E., Root A. W. (1978): Synthesis of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in the nephrectomised pregnant rat. *Endocrinology* 103: 1992-1996.
- WEISMAN Y., Harell A., Edelstein S., David M., Spirer Z., Golander A. (1979): 1a,25-dihydroxyvitamin D₃ and 24,25-dihydroxyvitamin D₃ in vitro synthesis by human decidua and placenta. *Nature (London)* 281: 317-319.
- WEISMAN Y., Hochberg Z., Pollack S., Meshulam T., Zakut V., Spirer Z., Benderli A., Etzioni A. (1985): Defective neutrophil candidacidal activity in patients with resistance to 1,25(OH)₂-vitamin D₃. In: Norman A. W., Schaefer K., Grigoleit H. G., Herrath D. v., (Hrsg.) *Vitamin D. Chemical, biochemical and clinical update*. De Gruyter, Berlin: pp 1077-1078.
- WINDAUS A., Holtz K. (1927): Die experimentelle Rattenrachitis und ihre Beziehung zum Ergosterin. *Nachr Ges Wiss Göttingen Math Phys Kl* 2.
- YETGIN S., Ozsoylu S. (1982): Myeloid metaplasia in vitamin D deficiency rickets. *Scand J Haematol* 28: 180-185.
- ZARRABEITIA M. T., Riancho J. A., Farinas M. C., Rodriguez-Valverde V., Gonzales-Macias J. (1985): Evidence for a monocyte-dependent mechanism in the calcitriol inhibitory effect on lymphocyte proliferation. In: Norman A. W., Schaefer K., Grigoleit H. G., Herrath D. v., (Hrsg.) *Vitamin D. Chemical, biochemical and clinical update*. De Gruyter, Berlin: pp 261-262.
- ZERWEKH J. E., Glass K., Jowsey J., Pak C. Y. C. (1979): An unique form of osteomalacia associated with end organ refractoriness to 1,25-dihydroxyvitamin D and apparent defective synthesis of 25-hydroxyvitamin D. *J Clin Endocrinol Metab* 49: 171-175.

A N H A N G

Abbildungen 9 - 20



1984 JUNI JULI AUG SEPT OKT NOV DEZ JAN FEB MÄRZ APR MAI JUNI JULI AUG SEPT OKT NOV 1985

Abb. 9. Übersicht der antirachitischen Therapie. Dargestellt sind die Tagesdosen von oralem und intravenösem Kalzium, der Kalziferole und von Phosphat. Die linke Skala der Kalziferoltherapie gilt für die 1-hydroxylierten Metabolite 1a(OH)D₃ - markiert mit 1a - und 1,25(OH)D₃ - markiert mit 1,25 -, die rechte für Vitamin D₃, orales Kalzium wurde als 10% Lösung (L) oder als Brause (B) gegeben.

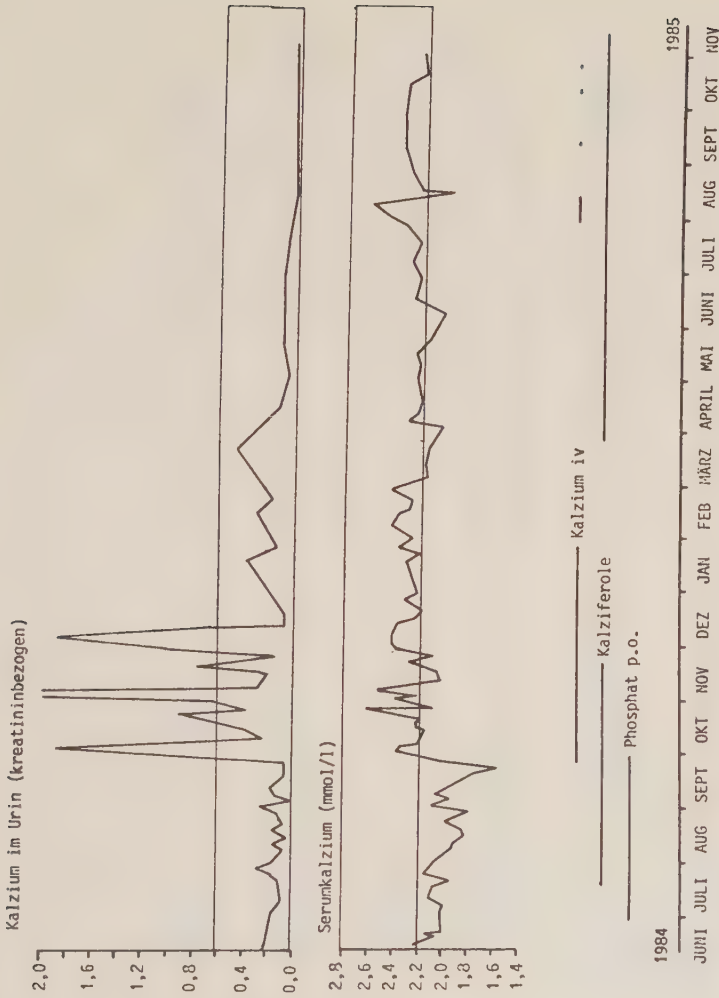


Abb. 10. Serumkalzium und Kalziumausscheidung im Urin. Kalzium und Kreatinin im Urin wurden in der Einheit mg/dl durcheinander dividiert, sodass die resultierenden Werte benennunglos sind. Die Normalbereiche sind als $\square$ angegeben, die Durchführung von oraler Phosphat- und Kalziferoltherapie sowie von Kalziuminfusionen ist schematisch dargestellt.

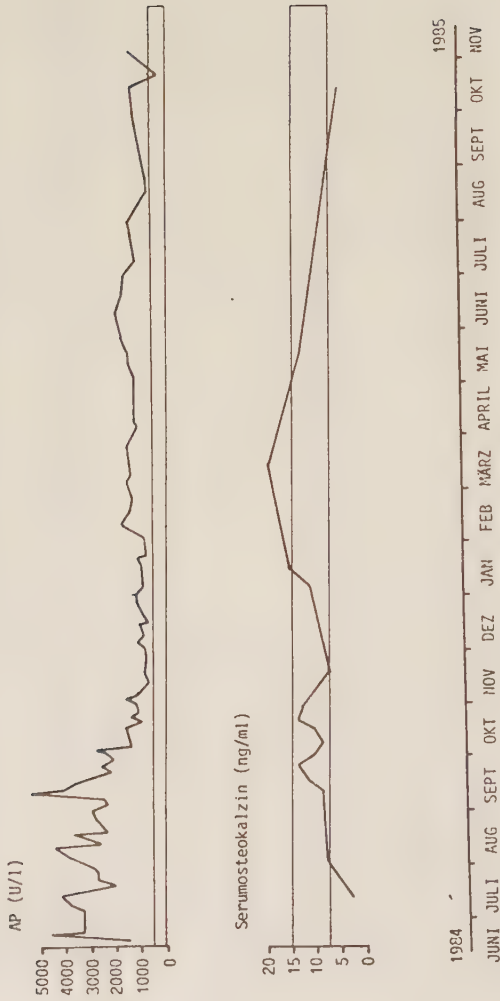


Abb. 11. Alkalische Phosphatase und Osteocalzin im Serum. Die Normalbereiche sind als angegeben.

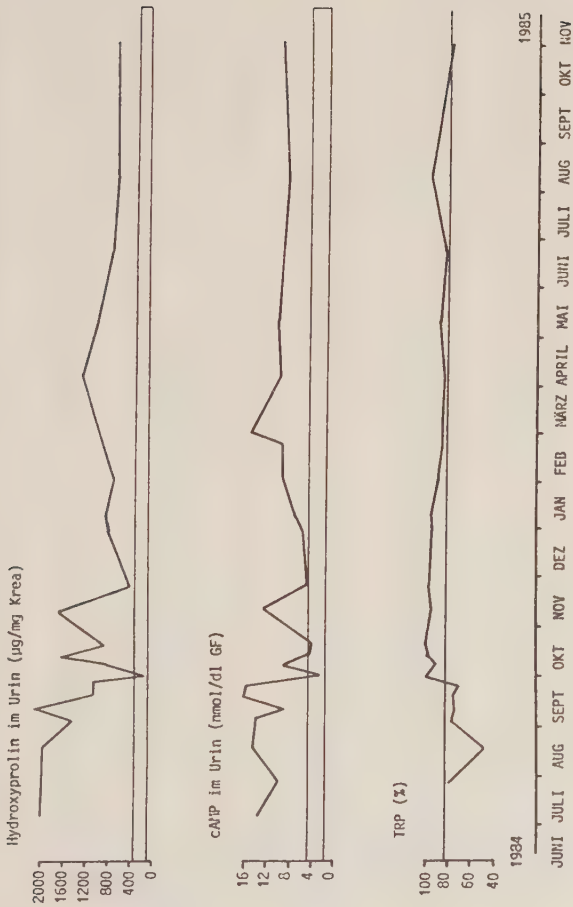


Abb. 12 Hydroxyprolin und Zykloadenosinmonophosphat (cAMP) im Urin sowie tubuläre Phosphatrickresorption (TRP). Die Normalbereiche sind als angegeben; bei TRP ist die untere Normgrenze eingezeichnet.

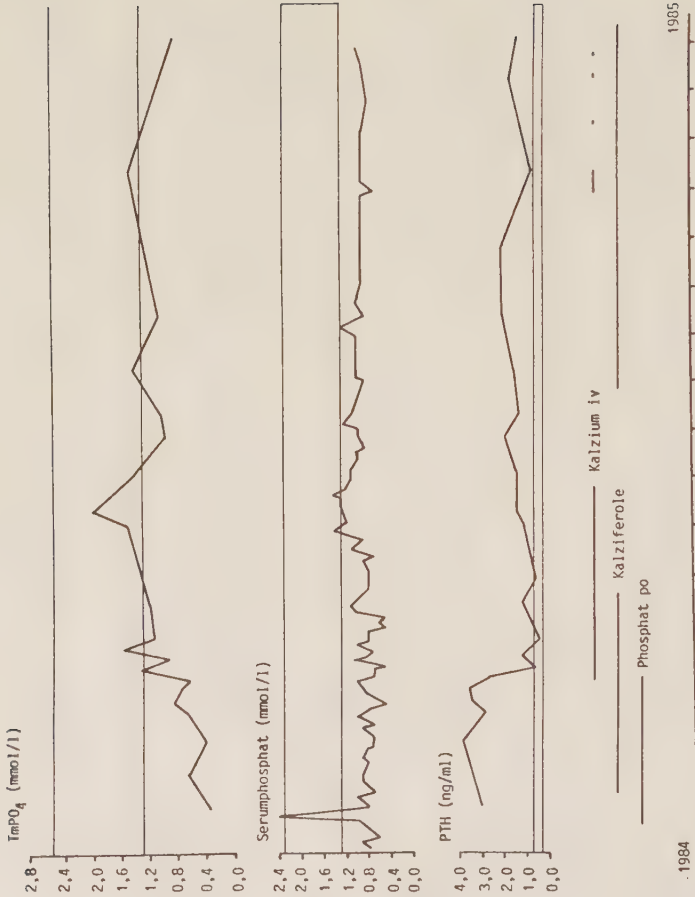


Abb. 13. Tubuläres Transportmaximum für Phosphat (TmPO_4) sowie Phosphat und Parathormon (PTH) im Serum. Die Normalbereiche sind als angegeben, die Durchführung von oraler Phosphat- und kalziferoltherapie sowie von Kalziuminfusionen ist schematisch dargestellt.

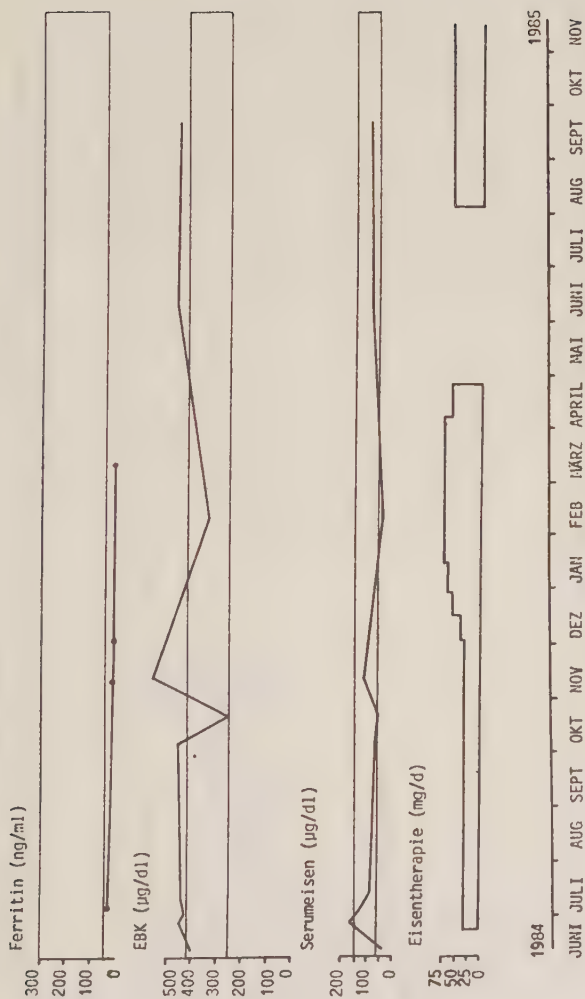


Abb. 14. Ferritin, Eisenbindungskapazität (EBK) und Eisen im Serum. Die Normalbereiche sind als angegeben. Unten sind die Tagesdosen der oralen Eisentherapie dargestellt.

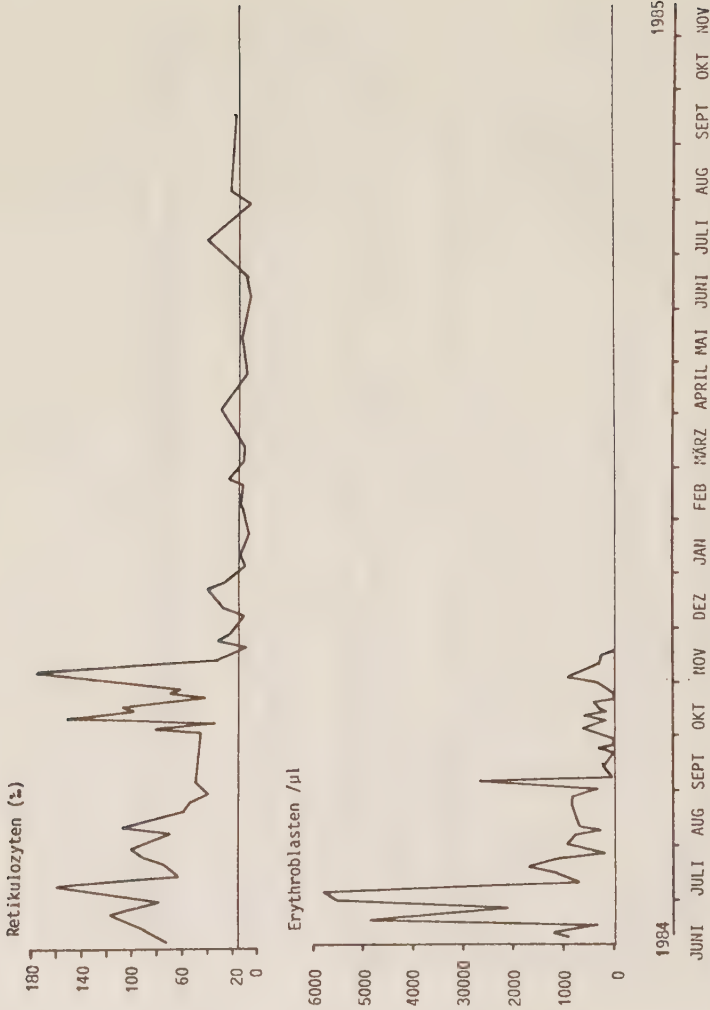


Abb. 15. Retikulozyten und Erythroblasten im peripheren Blut. Die oberen Normgrenzen sind eingezeichnet. Eine Zusammenstellung des Verlaufs der Zellzahlen von unreifen roten und weißen Blutzellen in Zusammenhang mit der antirachitischen Therapie findet sich in Abb. 8 (Kapitel 8.1).

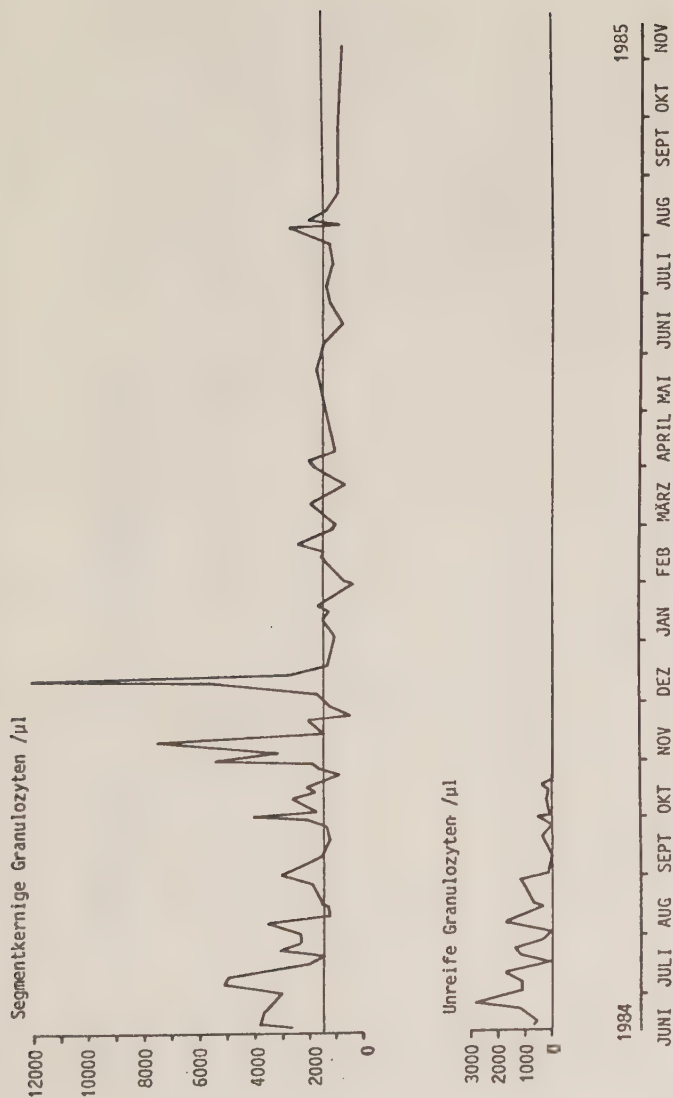


Abb. 16. Segmentkernige und unreife Granulozyten im peripheren Blut. Unter den unreifen Zellen sind Myeloblasten, Promyelozyten, Myelozyten und Metamyelozyten zusammengefasst. Für die Segmentkernigen ist die untere Normgrenze, für die Unreifen die obere eingezeichnet. Eine Zusammenstellung des Verlaufs der Zellzahlen von unreifen weissen und roten Blutzellen in Zusammenhang mit der antirachitischen Therapie findet sich in Abb. 8 (Kapitel 8.1).

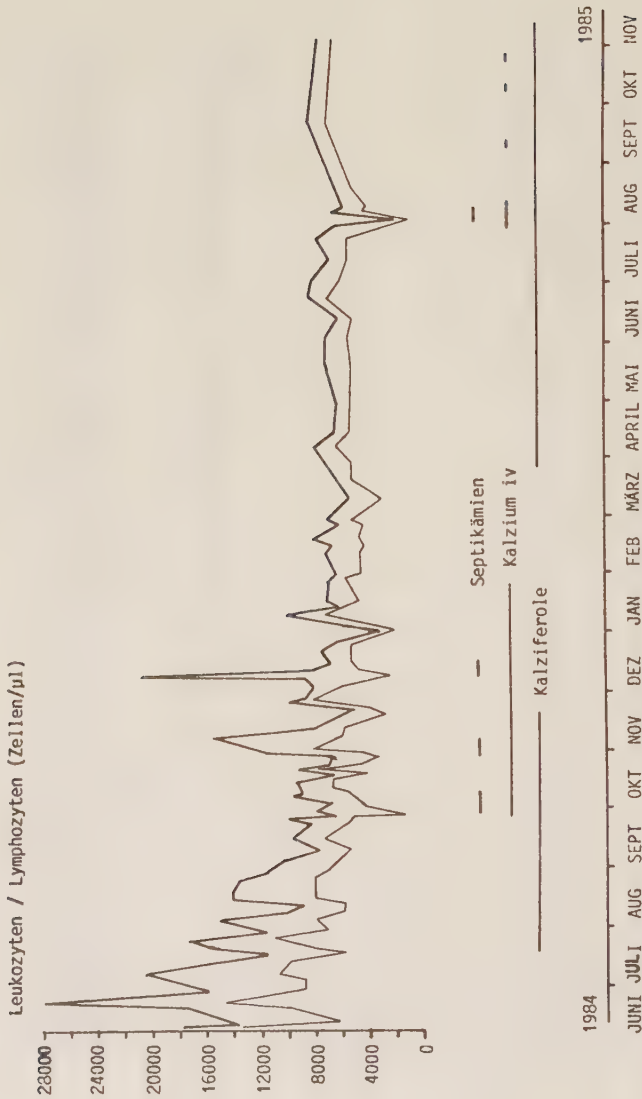


Abb. 17. Leukozyten (—) und Lymphozyten (---) im peripheren Blut. Die Septikämien sowie die Kalziuminfusionen und die Kalziferoltherapie sind schematisch dargestellt.

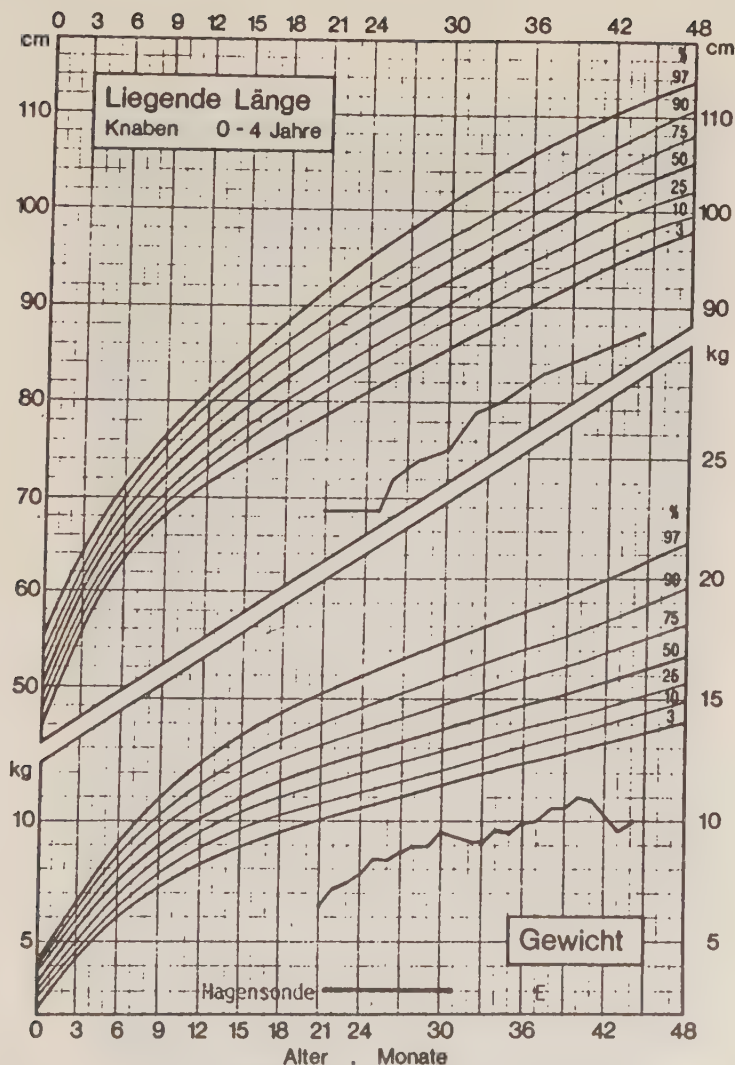


Abb. 18. Körpergröße und Gewicht des Patienten im Verlauf. Die Kurven beginnen mit der stationären Aufnahme in München. Der Zeitraum der Nahrungssondierung und das Ende des stationären Aufenthaltes (E) sind im unteren Teil markiert. Der Verlauf der Kurven in den Emiraten wurde uns von Dr. Wettrell, Tawam Hospital, Al Ain, mitgeteilt. Der Verlaufsbogen wurde von PRADER et al. entworfen (Helv. Paediat. Acta, Suppl. 1982).

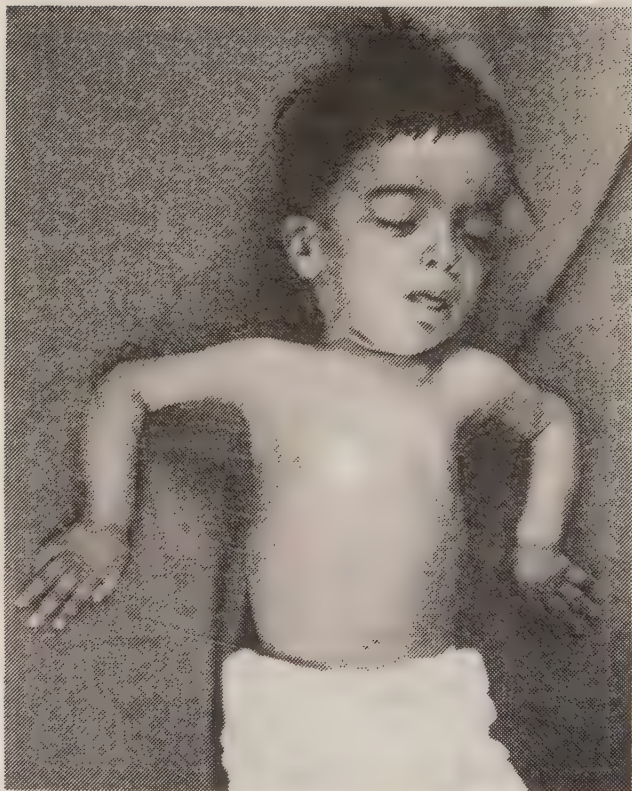


Abb. 19a. Der Patient bei Aufnahme.
Bei dem schwerkranken, dystrophischen Kleinkind
sind deutlich die rachitischen Zeichen zu erken-
nen: aufgetriebene Handgelenke, Rosenkranz, Ca-
put quadratum.



Abb. 19b. Der Patient kurz vor Entlassung. Trotz deutlich gebesserten Allgemein- und Ernährungszustandes sind noch rachitische Zeichen zu erkennen: Aufgetriebene Hand- und Sprunggelenke (Marfansche Doppelhöcker), Caput quadratum und Froschbauch.



Abb. 20a. Handskelett bei Aufnahme.
Die Knochen sind extrem demineralisiert. Die
Strahlendichte der Weichteile ist fast ebenso
groß wie die der Knochen. Das Knochenalter
des 20 Monate alten Jungen ist deutlich zu-
rückgeblieben.



Abb. 20b. Handskelett kurz vor Entlassung. Man sieht eine deutliche Zunahme der Mineralisation, es liegt aber bei weitem noch keine normale Knochendichte vor. Die rachitische Becherung von Radius und Ulna ist jetzt klar zu erkennen. Das Knochenalter hat sich normalisiert.

L E B E N S L A U F

1. September 1958 in München geboren als Sohn von
Dr. med. Dr. phil. Karl und
Dr. med. Ilse Walka
- 1964 - 1968 Dom-Pedro-Volksschule, München
- 1968 - 1977 Wittelsbacher Gymnasium, München
- 1977 - 1978 Zivildienst als Krankenpfleger im
Krankenhaus Neuwittelsbach, München
- 1978 - 1985 Studium der Humanmedizin an der
Ludwig-Maximilians-Universität München
- 1982 - 1983 Paris-Aufenthalt mit Sprachkurs und
Famulatur (Hépatogastroentérologie
am Hôpital St. Antoine, Université
Paris VI, Pierre et Marie Curie)
- 1984 - 1985 Praktisches Jahr mit Wahlfach Pädiatrie
an der Haunerschen Universitätskinder-
klinik München
- Mai 1985 Abschluß des Medizinstudiums mit dem
mündlichen Teil der Ärztlichen Prüfung
unter Vorsitz von Prof. Riegel (Neo-
natologie), mit "sehr gut" benotet
- Juli 1985 Erfolgreiches Absolvieren des amerika-
nischen Staatsexamens (ECFMG) und der
dazugehörigen englischen Sprachprüfung
- September 1985 Vortrag "Vitamin D-abhängige Rachitis
Typ II (DAR II) ohne Alopezie mit
extramedullärer Blutbildung und Immun-
defizienz" auf der 81. Tagung der
Deutschen Gesellschaft für Kinderheil-
kunde in Frankfurt/Main
- November 1985 Flug in die Vereinigten Arabischen
Emirate zur Heimführung des Kindes,
über das ich promovierte, und zur
Sicherstellung seiner dortigen medi-
zinischen Versorgung
- Mai 1987 Aufnahme der ärztlichen Berufstätigkeit
an der Universitätskinderklinik Göttingen

